

UNIVERSITÉ DE GENÈVE
Département de chimie
analytique et minérale

FACULTÉ DES SCIENCES
Professeur Denys Monnier

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'OXYDATION D'UNE HUILE ESSENTIELLE CATALYSÉE PAR LES TRACES MÉTALLIQUES

THÈSE

présentée à la Faculté des Sciences
de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur ès sciences chimiques
par
François-Claude GUGLIELMINA
de France

Thèse N° 1626

GENÈVE

Imprimerie de Plainpalais - R. Kreutzer

1974

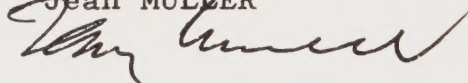
La faculté des sciences, sur le préavis du professeur D. MONNIER, directeur de thèse, du professeur W. HAERDI et du Dr. G. PAMM (Research Manager-Fibers Du Pont de Nemours International S.A.),

autorise l'impression de la présente thèse, sans exprimer d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

GENÈVE, le 29 juin 1973

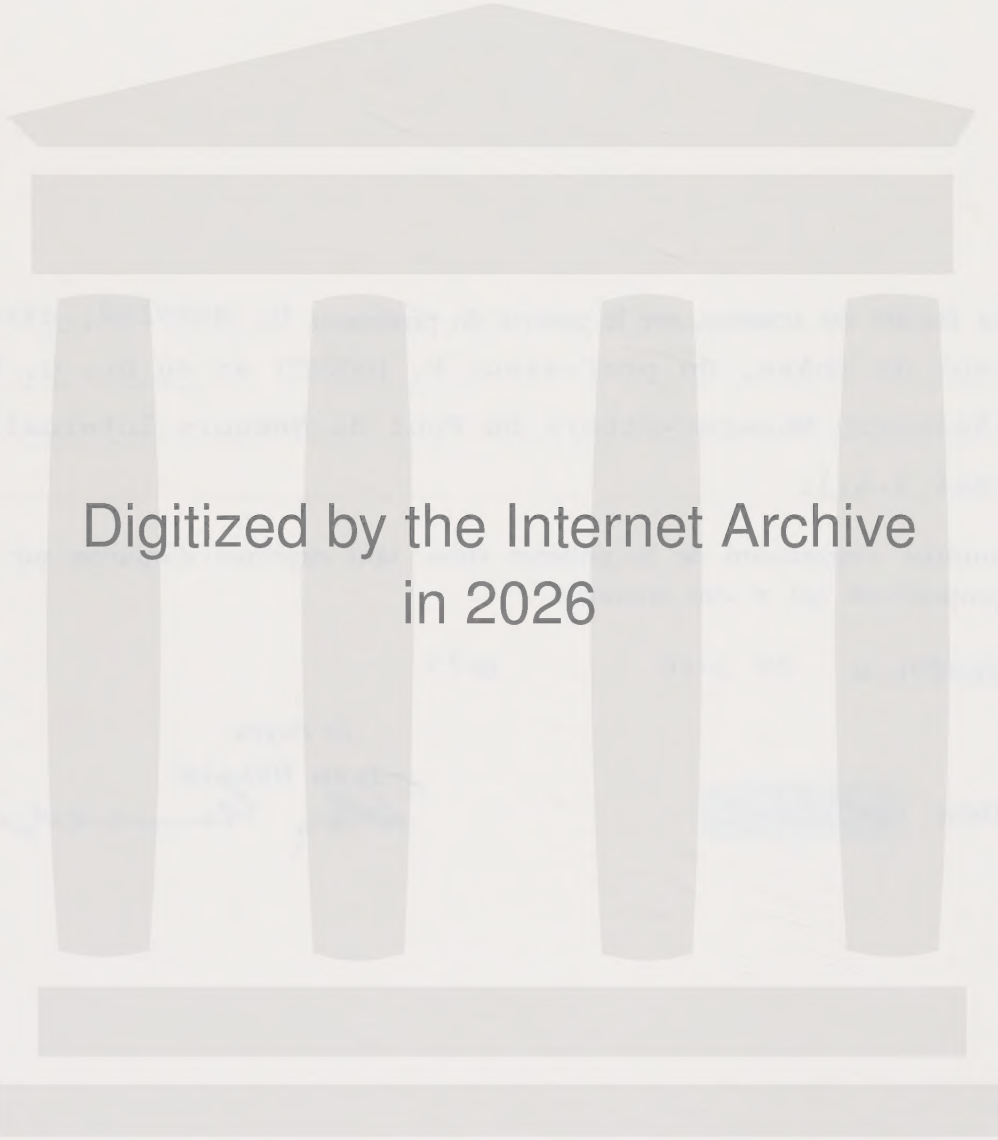
Le Doyen :

Jean MULLER



Thèse

---1626---



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545902_0006

A mon père

Ce travail a été effectué dans les laboratoires du
Département de Chimie Minérale et Analytique au cours des années
1970- 1973.

J'exprime ici toute ma reconnaissance aux Professeurs
Denys Monnier et W. Haerdi pour les encouragements et les conseils
précieux qu'ils n'ont cessé de me prodiguer tout au long de ce
travail.

Je tiens également à présenter mes plus vifs remerci-
ements au Professeur Marcantonatos pour l'aide et l'intérêt qu'il
a porté à mon travail, et à Monsieur Cérez pour sa précieuse
collaboration technique.



TABLE DES MATIERES

Table des matières

Table des symboles

Chapitre 1 :	INTRODUCTION	1
1.1.	Objectif de la thèse	1
1.2.	Définition d'une huile essentielle	1
1.3.	Importance d'une telle étude	1
1.4.	Choix de l'huile	2
Chapitre 2 :	ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DES FACTEURS INTER- VENANT SUR LA STABILITE DES HUILES ESSEN- TIELLES	3
2.1.	Généralités et définitions	3
2.2.	Influence de l'O ₂ de l'air dissous dans l'huile sur la stabilité de celle-ci	4
2.3.	Influence de la lumière naturelle ou actinique	9
2.4.	Les traces métalliques	16
2.5.	Influence de la température	20
Chapitre 3 :	ANALYSE DES TRACES METALLIQUES DANS L'HUILE ESSENTIELLE DE CITRON	21
A.	Etude bibliographique	21
3.1.	Généralités	21

3.1.1.	Méthodes d'analyse des traces métalliques sans séparation de la matrice organique	21
3.1.2.	Méthodes exigeant une séparation préalable des traces	21
3.1.3.	Méthodes de séparation des traces métalliques de la matrice organique	22
8.	Partie pratique	
3.2.	Méthodes non destructives : analyse par activation	26
3.2.1.	Etude qualitative	26
3.2.2.	Etude quantitative	35
3.3.	Analyses exigeant une séparation des traces métalliques	40
3.3.1.	Méthodes envisagées	40
3.3.2.	Conclusion	44
3.3.3.	Choix de la méthode d'analyse	45
3.3.4.	Analyse qualitative	45
3.3.5.	Analyse quantitative	50
3.3.5.1.	Etude du Cd^{+2}	50
3.3.5.2.	Etude du Pb^{+2}	54
3.3.5.3.	Etude du Fe^{+3}	57
3.3.5.4.	Etude du Zn^{+2}	62
3.4.	Tableau récapitulatif	62
Chapitre 4 :	DETECTION DE L'ACIDE CITRIQUE, ANTIOXYDANT NATUREL DANS L'HUILE ESSENTIELLE DE CITRON	63
4.1.	Introduction et but de cette méthode	63
4.2.	Recherche qualitative	64

4.3.	Recherche semi-quantitative	69
4.3.1.	Procédé	70
4.3.2.	Courbe d'étalonnage	70
4.3.3.	Mesures	73
Chapitre 5 :	CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'OXYDATION DU CITRAL, COMPOSANT DE L'HUILE ESSENTIELLE DE CITRON	74
5.1.	Introduction	74
5.2.	Appareillage	76
5.3.	Conditions expérimentales	80
5.3.1.	Cinétique d'oxydation du citral en absence de lumière, sans adjonction de catalyseur	80
5.3.2.	Influence des catalyseurs sur la cinétique d'oxydation	83
RESUME ET CONCLUSION		88
Bibliographie		89-92

TABLE DES SYMBOLES

$k_1, k_o, k_p,$	= constantes de vitesse
k_t', k_t'', k_t'''	= constantes de vitesse
$R., RO_2.$	= radicaux libres
r_i	= vitesse de production des radicaux libres
A, A^*, A^{**}, A', A''	= niveaux d'énergie d'un état moléculaire
h	= constante de Planck
ν	= fréquence d'une radiation électromagnétique
M^{n+}	= ion métallique possédant une charge $n +$
ΔH	= enthalpie
ΔS	= entropie
ΔG	= énergie libre
T.I.	= temps d'irradiation
T.R.	= temps de décroissance avant comptage
T.C.	= temps de comptage
cps/min	= nombre de coups par minute
t_o	= temps de fin d'irradiation
t_1	= temps de début de comptage
A_o	= activité au temps t_o
N	= nombre de coups donnés par le pic lors comptage
T	= période (en heures) du radioélément

$E_{\frac{1}{2}}$	= potentiel de demi-vague de la réduction d'un élément métallique à l'électrode à goutte tombante de Hg
i_{d_x}	= courant de diffusion d'un échantillon inconnu
$i_{d_{x+e}}$	= courant de diffusion d'un échantillon inconnu avec étalon interne
i_{d_e}	= courant de diffusion d'0 à l'étalon interne seul
D	= absorption
λ	= longueur d'onde

Chapitre 1

1.1 Objectifs de la thèse

Contribution à l'étude de la catalyse de l'oxydation d'une huile essentielle par les traces métalliques qu'elle contient.

1.2 Définition d'une huile essentielle

L'expression "huile essentielle" vient du latin "Quinta Essentia", essence des choses, le "cinquième élément".

Depuis l'Antiquité, l'homme a été intrigué par ces huiles. Ce sont des extraits de tissus vivants, principalement d'origine végétale qui contiennent des substances donnant le goût et l'odeur de la plante aromatique. Certaines huiles sont d'origine animale, telles que le musc, la civette et l'ambregris.

Elles trouvent leur application dans l'industrie de la parfumerie grâce à leurs qualités aromatiques et dans l'industrie pharmaceutique du fait de leurs propriétés antibactériennes et antifongiques.

1.3 Importance d'une telle étude

Depuis longtemps on sait qu'une huile essentielle perd ses qualités organoleptiques par oxydation, Rouget et coll.(1) signale une méthode permettant de conserver l'huile même en présence de traces métalliques; habituellement les huiles industrielles sont stabilisées par l'adjonction d'antioxydants. Malgré ces précautions, elles s'oxydent après un temps plus ou moins long. L'étude du mécanisme de l'oxydation, encore mal connu, permettra de lutter plus efficacement contre la dégradation de ces huiles.

1.4 Choix de l'huile

Il s'agissait, parmi les nombreuses huiles essentielles, de faire un choix. Celui-ci s'est porté sur l'essence de citron pour des raisons d'échantillonnage. En effet, la Maison Givaudan S.A. de Vernier dispose d'une qualité à peu près constante d'huile essentielle de citron, celle-ci étant stockée en grande quantité.

Chapitre 2

Etude bibliographique des facteurs intervenant sur la stabilité des huiles essentielles.

2.1 Généralités et définitions

Les facteurs qui jouent un rôle lors de la dégradation de l'huile sont les suivants :

- a) L'oxygène de l'air dissous dans l'huile
- b) la lumière naturelle ou artificielle
- c) certains métaux : Cu, Fe, (catalyseurs d'oxydation)
- d) les sels de différents métaux. Principalement oxydes et hydroxydes de Fe.
- e) les molécules déjà oxydées, hydroxylées, acidifiées
 - réactions en chaîne
 - accélération
- f) la chaleur, ΔT
- g) l'eau en émulsion- H_2O atmosphérique par exemple

Le processus d'évolution comporte trois phases :

- induction
- oxydation { vitesse constante
vitesse ralentie
- polymérisation

La période d'induction est la durée pendant laquelle l'huile est en contact avec l'oxygène de l'air avant que l'oxydation ne commence, elle est en général très courte. Elle représente le temps nécessaire à l'épuisement des inhibiteurs d'oxydation présents naturellement dans l'huile (acides hydroxylés : acide citrique, acide maléique). Certains facteurs en influencent la durée :

- la lumière
- certains catalyseurs (la raccourcissent)
- la chaleur
- les inhibiteurs (la prolongent)

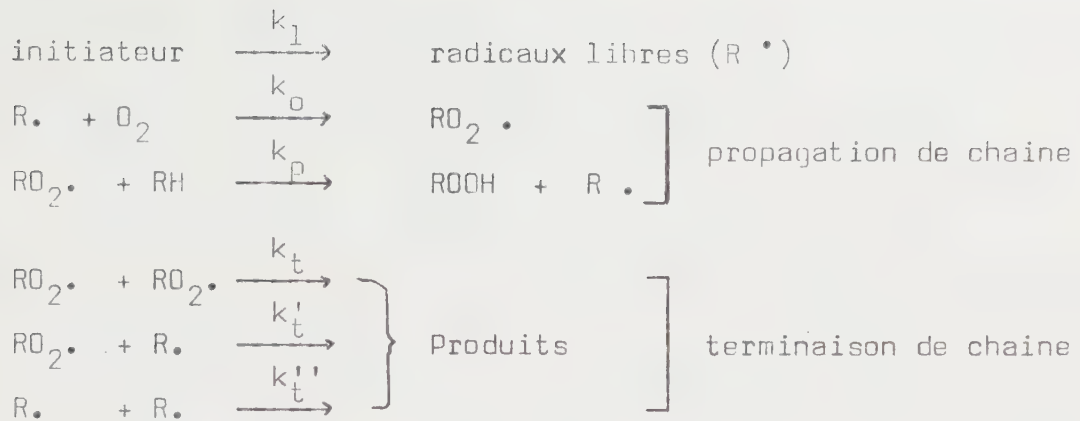
L'oxydation se fait en deux étapes, tout d'abord avec une vitesse constante. L'oxygène réagit librement sur les molécules de l'huile essentielle aromatique. La vitesse d'oxydation est presque exclusivement fonction de la quantité d'oxygène contenue dans l'air dissous. Elle est indépendante des catalyseurs positifs ou négatifs, la chaleur et la lumière actinique l'augmentent faiblement.

Puis après un certain temps, la vitesse diminue jusqu'à devenir nulle. Cette période d'oxydation ne dépend que de la chaleur.

La polymérisation est un processus continu, accéléré par la présence de produits d'oxydation, de lumière actinique et de catalyseurs.

2.2 Influence de l'oxygène de l'air dissous dans l'huile sur la stabilité de celle-ci

L'oxygène de l'air dissous peut jouer un rôle dans les mécanismes régissant la période d'induction (en particulier lors de la catalyse par traces métalliques- voir plus loin), elle influe sur la période d'oxydation proprement dite. Des études approfondies ont été faites sur le linoléate d'éthyle, en particulier par Farmer, Bolland, Gee et Bateman (2). Voici le mécanisme proposé : la réaction présente tous les caractères d'une réaction en chaîne faisant intervenir des radicaux libres. En particulier, certaines substances (dites initiatrices), ajoutées, même en quantités très faibles en milieu réactionnel, se décomposent en radicaux libres et catalysent la réaction.



k_1 , k_o , k_p , k_t , k'_t , k''_t sont des constantes de vitesse
 $\text{R} \cdot$, $\text{RO}_2 \cdot$ sont des radicaux libres.

Dans tout ce qui va suivre, on admettra que la concentration en radicaux libres est après un temps donné stationnaire. Si ce n'était pas le cas, la réaction serait explosive, ou, sa vitesse diminuerait très rapidement. On a donc :

$$\frac{d(\text{Radical})}{dt} = 0$$

Deux cas peuvent se présenter :

- La solution est saturée en oxygène
- La solution n'est pas saturée en oxygène

a) Cas de la solution saturée en oxygène

La réaction $\text{R} \cdot + \text{O}_2 \rightarrow \text{RO}_2 \cdot$ est très rapide, et on peut se permettre de négliger les réactions de terminaison de chaine :



la concentration $[\text{RO}_2 \cdot]$ étant beaucoup plus grande que la concentration $[\text{R} \cdot]$.

En appliquant les conditions de l'état stationnaire, on obtient :

$$\frac{d[R\cdot]}{dt} = r_i + k_p [RO_2\cdot][RH] - k_o [R\cdot][O_2] \quad (1)$$

r_i étant la vitesse de production des radicaux libres.

De façon tout à fait semblable, on a :

$$\frac{d[RO_2\cdot]}{dt} = k_o [R\cdot][O_2] - k_p [RO_2\cdot][RH] - k_t [RO_2\cdot]^2 \quad (2)$$

L'état stationnaire implique que :

$$\frac{d[R\cdot]}{dt} = 0 \quad \text{et} \quad \frac{d[RO_2\cdot]}{dt} = 0$$

D'où l'addition des équations (1) et (2) donne :

$$r_i - k_t [RO_2\cdot]^2 = 0$$

$$\text{et} \quad [RO_2\cdot] = \left(\frac{r_i}{k_t} \right)^{\frac{1}{2}}$$

$$\text{Comme :} \quad \frac{d[ROOH]}{dt} = k_p [RO_2\cdot][RH]$$

On obtient comme vitesse de formation de peroxyde :

$$\frac{d[ROOH]}{dt} = \left(\frac{r_i}{k_t} \right)^{\frac{1}{2}} \cdot k_p \cdot [RH]$$

C'est donc une réaction du premier ordre vis à vis du substrat $[RH]$, et cette vitesse dépend également de la racine carrée de la vitesse de formation des radicaux, soit : $\sqrt{r_i}$

b) Cas de non saturation de la solution en oxygène

Il faut alors tenir compte des réactions :



En faisant le même raisonnement que ci-dessus, en tenant compte que

$$k_o [\text{R.}] [\text{O}_2] = k_p [\text{RO}_2\cdot] [\text{RH}] \quad (o)$$

et du fait que :

$$\frac{d[\text{R.}]}{dt} = 0 \quad \text{et} \quad \frac{d[\text{RO}_2\cdot]}{dt} = 0$$

On applique le principe de l'état stationnaire :

$$\frac{d[\text{R.}]}{dt} = r_i - k_o [\text{R.}] [\text{O}_2] + k_p [\text{RO}_2\cdot] [\text{RH}] - k_t' [\text{R.}] [\text{RO}_2\cdot] - k_t'' [\text{R.}]^2 = 0 \quad (1)$$

et :

$$\frac{d[\text{RO}_2\cdot]}{dt} = k_o [\text{R.}] [\text{O}_2] - k_p [\text{RO}_2\cdot] [\text{RH}] - k_t [\text{RO}_2\cdot]^2 - k_t' [\text{R.}] [\text{RO}_2\cdot] = 0 \quad (2)$$

En additionnant les équations (1) et (2), on obtient :

$$r_i - 2k_t' [\text{R.}] [\text{RO}_2\cdot] - k_t'' [\text{R.}]^2 - k_t [\text{RO}_2\cdot]^2 = 0$$

Or l'équation (o) nous donne la valeur de $[\text{R.}]$:

$$[\text{R.}] = \frac{k_p [\text{RH}] [\text{RO}_2\cdot]}{k_o [\text{O}_2]}$$

Remplaçons cette valeur dans l'équation précédente :

$$r_i - 2 k_t' \frac{k_p [RH] [RO_2\cdot]^2}{k_o [O_2]} - \frac{k_t'' k_p^2 [RH]^2 [RO_2\cdot]^2}{k_o^2 [O_2]^2} - k_t [RO_2\cdot]^2 = 0$$

soit encore :

$$[RO_2\cdot]^2 \left[\frac{2k_t' k_p [RH]}{k_o [O_2]} + \frac{k_t'' k_p^2 [RH]^2}{k_o^2 [O_2]^2} + k_t \right] = r_i$$

ce qui donne :

$$[RO_2\cdot] = \left[\frac{r_i}{\frac{2k_t' k_p [RH]}{k_o [O_2]} + \frac{k_t'' k_p^2 [RH]^2}{k_o^2 [O_2]^2} + k_t} \right]^{\frac{1}{2}}$$

$$\text{or : } \frac{d [ROOH]}{dt} = k_p [RO_2\cdot] [RH]$$

Donc :

$$\frac{d [ROOH]}{dt} = k_p \frac{(r_i)^{\frac{1}{2}} [RH] k_o [O_2]}{\left[2k_t' k_p k_o [RH] [O_2] + k_t'' k_p^2 [RH]^2 + k_t k_o^2 [O_2]^2 \right]^{\frac{1}{2}}}$$

Pour simplifier, considérons que $(k_t')^2 = k_t k_t''$

On a alors :

$$\frac{d[\text{ROOH}]}{dt} = k_p \frac{(r_i)^{\frac{1}{2}} [\text{RH}] k_o [\text{O}_2]}{(k_t'')^{\frac{1}{2}} k_p [\text{RH}] + (k_t)^{\frac{1}{2}} k_o [\text{O}_2]}$$

On voit que dans le cas des huiles essentielles la quantité de substrat est très grande par rapport à $[\text{ROOH}]$, si bien que l'on peut considérer que $[\text{RH}] = \text{constante}$, Bolland, Gee et Bateman (2) retrouvent les mêmes conclusions que Rouget (1), à savoir que lors de la phase d'oxydation constante, la vitesse de la réaction ne dépend que de la concentration de l'oxygène dissous dans le milieu.

2.3 Influence de la lumière naturelle ou actinique

La lumière joue un rôle important dans l'oxydation des huiles essentielles. On peut admettre deux étapes pour les réactions photochimiques.

- un processus primaire : la réaction par absorption du photon sur certains substrats.

- un processus secondaire : dans lequel les intermédiaires formés par le processus primaire subissent une série de réactions qui conduisent aux produits finaux.

Le solvant joue un grand rôle dans ces réactions photochimiques, il peut influencer les réactions primaires et secondaires et changer ainsi la nature des produits. En plus de ces effets (propriétés photochimiques des molécules altérées par des réactions acide-base, formation de complexes avec le solvant), des molécules à l'état excité peuvent réagir avec des molécules du solvant.

D'autre part, certaines molécules (dont celles du solvant) peuvent jouer le rôle de sensibilisateurs de la réaction photochimique (pigments colorés, hydrocarbures aromatiques, complexes).

On sera donc amené à considérer des réactions photochimiques simples et des réactions photochimiques sensibilisées.

a) le processus primaire

On ne connaît encore que relativement peu de choses sur les propriétés spectroscopiques des molécules polyatomiques, néanmoins, on a pu établir certaines règles générales. Voici d'après Livingston (3) un diagramme d'énergie d'une telle molécule :

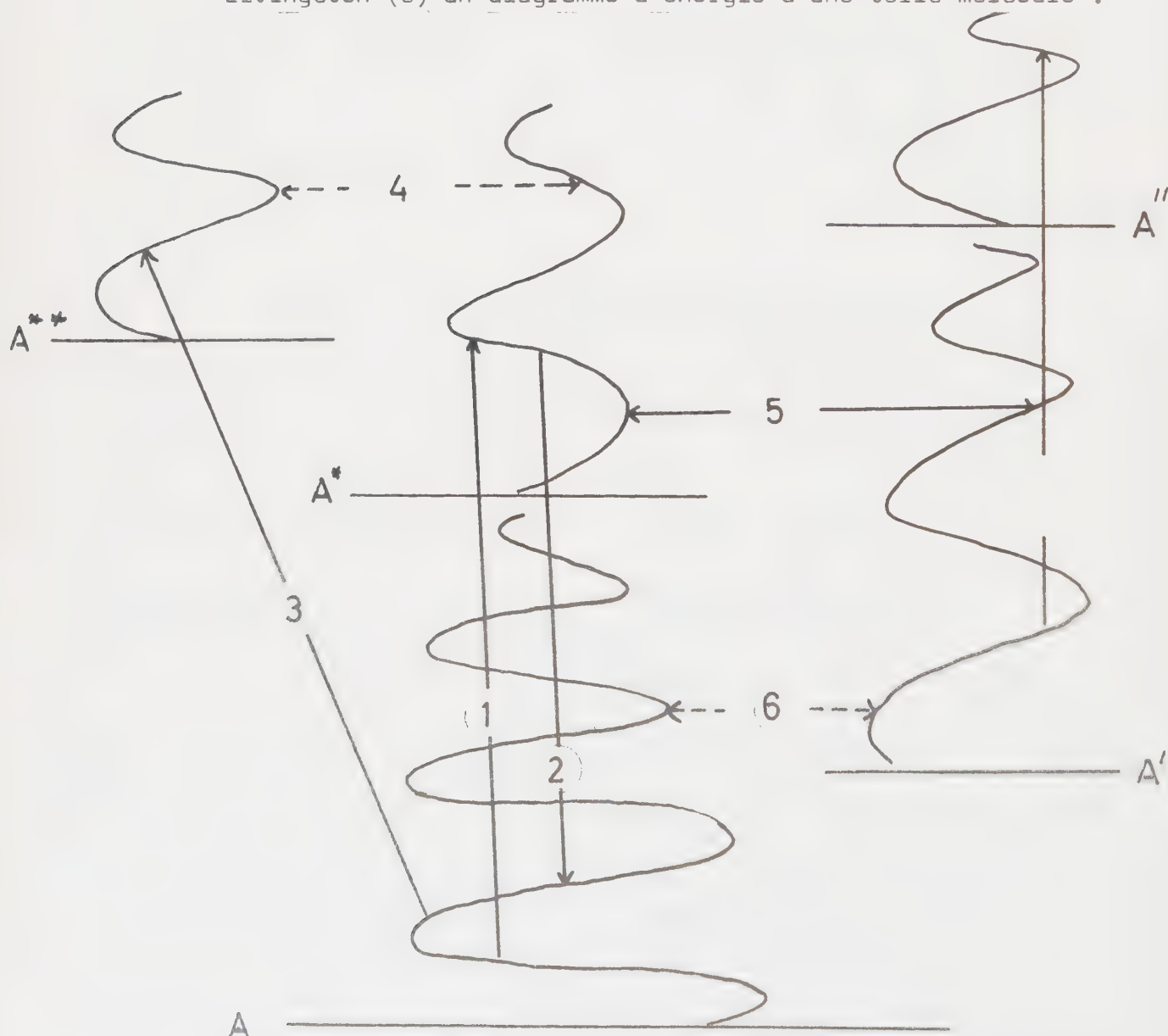


Diagramme schématisé de l'énergie d'une molécule polyatomique. Les flèches pointillées représentent des transitions non radiatives.

Les symboles A , A^* , A^{**} , A' et A'' désignent respectivement les niveaux d'énergie fondamentale de l'état singulet, le 1er niveau d'énergie de l'état singulet excité, le niveau d'énergie le plus bas de l'état triplet, et le niveau d'énergie de l'état triplet excité.

La flèche no (1) correspond à l'absorption de lumière de longueur d'onde située dans la première bande d'absorption du composé.

Ceci donne une molécule dont les électrons sont excités et qui possède un excès d'énergie de vibration. Celle-ci se perd petit à petit et la molécule arrive à un état d'équilibre thermique avec le milieu.

b) le processus secondaire

Comme la molécule a perdu un peu de son surplus d'énergie en s'équilibrant thermiquement avec le milieu, l'émission de fluorescence, correspondant à la flèche no (2), aura une longueur d'onde plus grande que celle de la lumière absorbée.

Il y a une autre possibilité : il existe en effet une probabilité non négligeable qu'elle perde son énergie en formant un composé chimique par réaction.

c) exemples de réactions photochimiques simples

La photooxydation de l'anthracène (A)

De nombreuses études faites par Bowen (4) et Livingston (5) sur la photooxydation de l'anthracène montrent que la réaction ne procède pas par un mécanisme de chaîne. Les solvants jouent d'ailleurs un grand rôle dans l'élaboration des produits de la réaction (4,6). Voici un mécanisme proposé par Livingston (3) :

<u>Réactions</u>	<u>Vitesse</u>
1. $A + h\nu \rightarrow A^*$	I (einstein/litre/seconde)
2. $A^* \rightarrow A + h\nu_f$	$k_2 [A^*]$ (mole/litre/seconde)
3. $A^* \rightarrow A'$	$k_3 [A^*]$
4. $A + A^* \rightarrow A + A$	$k_4 [A^*]$
5. $A + A^* \rightarrow A' + A$	$(1-\alpha) k_5 [A][A^*]$
6. $A + A^* \rightarrow A_2$	$\alpha k_6 [A][A^*]$
7. $O_2 + A^* \rightarrow O_2A'$	$k_7 [O_2][A^*]$
8. $A' \rightarrow A$	$k_8 [A']$
9. $O_2 + A' \rightarrow O_2A'$	$k_9 [O_2][A']$
10. $O_2A' \rightarrow A + O_2$	$k_{10} [O_2A']$
11. $A + O_2A' \rightarrow A + AOO$	$k_{11} [A][O_2A']$

Les symboles A^* , A' , O_2A' , A_2 et AOO correspondent respectivement à : l'état de fluorescence, l'état triplet, le monoxyde réactif, le dimère stable et finalement le peroxyde d'anthracène.

La photooxydation des oléfines (d'après Livingston (3))

Comme les hydrocarbures de la série du benzène, les premiers intermédiaires photochimiques des oléfines sont des radicaux obtenus par l'expulsion d'un atome d'hydrogène. En présence d'oxygène, il se produit une réaction en chaîne.

Initiation : 1- Production des radicaux $v_1 = \varphi_1 I_{\text{abs}}$

Propagation : 2- $R\cdot + O_2 \rightarrow RO_2\cdot$ $v_2 = k_2 [O_2][R\cdot]$

3- $RO_2\cdot + RH \rightarrow ROOH + R\cdot$ $v_3 = k_3 [RH][RO_2\cdot]$

Terminaison : 4- $2R\cdot \longrightarrow$ $v_4 = k_4 [R\cdot]^2$

5- $R\cdot + RO_2\cdot \longrightarrow$ $v_5 = k_5 [RO_2\cdot][R\cdot]$

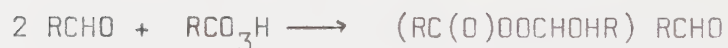
6- $2 RO_2\cdot \longrightarrow$ $v_6 = k_6 [RO_2\cdot]^2$

La photooxydation des aldéhydes (réf.3)

Ces réactions se produisent en chaines. La première étape étant la photodissociation de l'aldéhyde en deux radicaux :



Mais la nature de produits et les lois de vitesse indiquent que ces radicaux ne sont pas les propagateurs de la chaîne. Steacie () propose les mécanismes suivants :

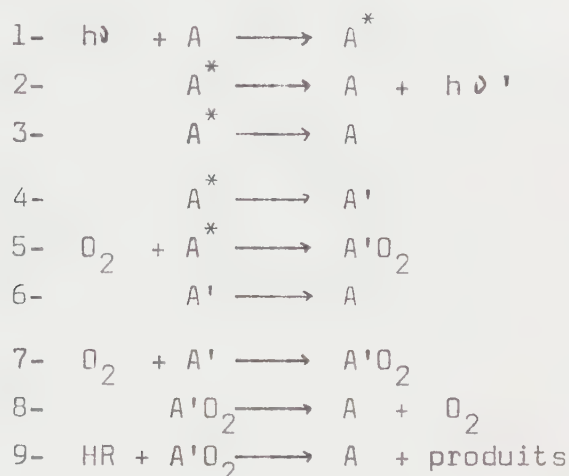
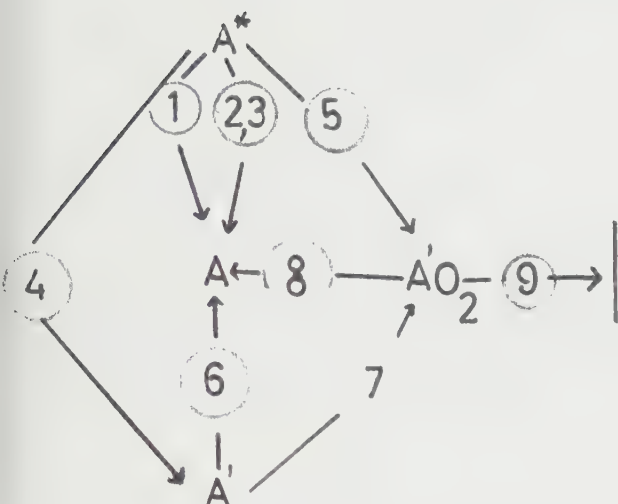


d) Réactions photochimiques sensibilisées (réf.3)

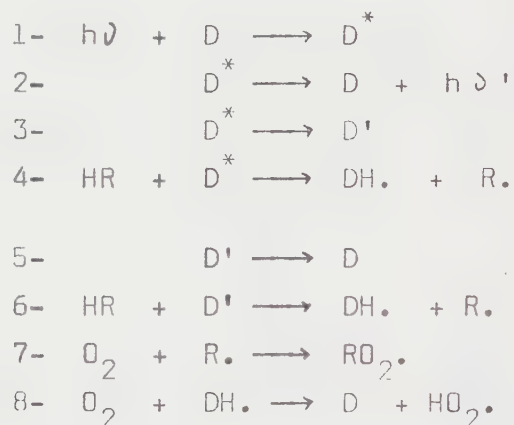
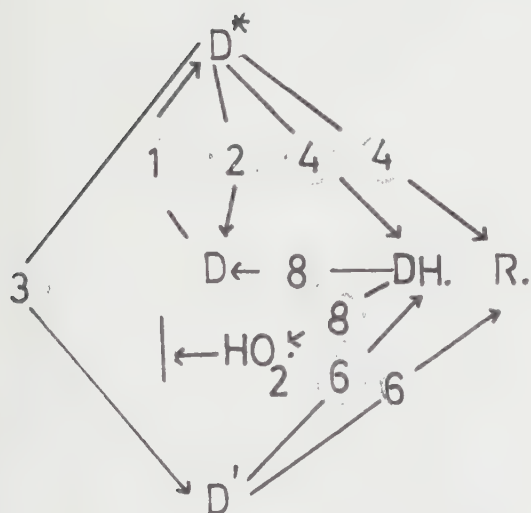
Les composés qui sensibilisent la photooxydation peuvent être divisés en deux groupes qui réagissent très différemment.

Le premier groupe (dont un exemple typique est donné par l'an-thracène) réagit avec l'oxygène. Il y a formation d'un monoxyde à courte durée de vie, mais très réactif.

Voici un mécanisme proposé par Schenk (7) et qui indique les étapes principales d'une telle réaction :



Le deuxième groupe (quinones par exemple) ne réagit pas avec l'oxygène. Voici un schéma possible d'un tel mécanisme (8) :



Les ions inorganiques en tant que sensibilisateurs

Un exemple bien connu : l'élixir de Bestucheff (9) montre que les ions ferriques jouent un rôle non négligeable dans la sensibilisation. A l'obscurité, une solution alcoolique de $FeCl_3$ est jaune : couleur du complexe du chlorure ferrique. Sous l'effet de photons lumineux, la couleur s'estompe, due à la réduction photochimique de l'ion ferrique par l'éthanol.

2.4 Les traces métalliques

De nombreuses études faites sur les graisses comestibles, en particulier par A. Vioque et M. del Pilar Villagran (10, 11), montrent que la présence de traces métalliques accélère l'autoxydation de ces matières.

Des études ont également été faites sur les huiles essentielles par Rouget (1). Elles reconnaissent l'importance de l'effet des traces métalliques, et en particulier des traces de fer. Afin de pouvoir estimer l'influence des traces métalliques non seulement sur la formation des peroxydes, mais également sur la décomposition de ces derniers, N. Uri (12) a étudié l'effet catalytique des traces de métaux sur l'oxydation du linoléate de méthyl.

Linoléate de méthyl : 0,1 M dans benzène à 25°C Concentration catalyseur : M/ 5000	Peroxyde formé milliéquivalent /mole de linoléate méthyl /heure
Co ²⁺ (rose)	approx. 7
Co ²⁺ (bleu)	approx. 7
Cu ²⁺	négligeable
Fe ³⁺	négligeable
Fe ²⁺ (en partie Fe ³⁺)	négligeable
Mn ²⁺	approx. 5
Ce ³⁺	approx. 4
Tl ⁺	négligeable
Sn ²⁺	négligeable

Quand il n'y a pas d'activité catalytique dans les 24 heures, elle est considérée par l'auteur comme négligeable.

Uri en conclut que les catalyseurs les plus actifs sont ceux qui sont oxydés par le transfert d'un électron :



Il est intéressant de noter que les métaux qui sont oxydés par le transfert de deux électrons ne semblent pas être actifs. D'autre part N. Uri (12) a trouvé que les composés cuivriques ne sont des catalyseurs que dans le cas où des peroxydes sont déjà présents dans le système. Le manque d'activité du stéarate cuivrique a été signalé par Lundberg (13) .

Mécanisme de l'action

a) Réduction des traces de peroxydes ROOH présentes dans le système

Il est admis que des traces de peroxydes sont présentes.



Voici quelques données énergétiques concernant une telle réaction entre quelques ions et H_2O_2 en milieu aqueux.

	ΔH_0 kcal/ mole	ΔS_0 cal/ degré	ΔG_0 kcal/ mole
$Co^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Co^{3+} + OH. + OH^-$	- 28	- 51	+ 43
$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + OH. + OH^-$	+ 5	- 51	+ 20
$V^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow V^{3+} + OH. + OH^-$	- 19	- 51	- 4
$Cr^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Cr^{3+} + OH. + OH^-$	- 23	- 51	- 8
$Cu^+ + H_2O_2 \longrightarrow Cu^{2+} + OH. + OH^-$	- 11	- 57	+ 6
$Ce^{3+} + H_2O_2 \longrightarrow Ce^{4+} + OH. + OH^-$	+ 14	- 44	+ 38
$Mn^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Mn^{3+} + OH. + OH^-$	+ 18	- 51	+ 36

La table donne une idée générale des échanges énergétiques, mais il est évident que la formation de complexes et le milieu environnant vont avoir de profonds effets sur ces valeurs.

En règle générale, les ions métalliques sont plus facilement oxydés en milieu organique qu'en milieu aqueux car la polarité du solvant organique est plus faible.

Il n'est donc pas surprenant de voir les composés du Co^{2+} et Mn^{2+} très actifs en milieu organique alors qu'ils ne le sont pas dans l'eau.

Il est évident que l'ion métallique est plus ou moins complexé dans la solution (Bawn (14)). Ces agents complexants peuvent favoriser l'échange électronique ou l'inhiber, exemple :

- les phthalocyanines de Co^{3+} sont parmi les plus forts catalyseurs d'oxydation.

- les acides organiques hydroxylés (acide citrique, maléique) inhibent l'action du stéarate de Co^{3+} .

Il se pose là le problème de la stabilité relative des complexes vis à vis d'un ion métallique donné, et c'est le problème de l'antioxydation.

b) Réaction directe de l'ion métallique avec O_2

Suivant le schéma :



Le radical ionique $\text{O}_2^{\cdot -}$ réagit immédiatement avec un proton pour donner le radical $\text{HO}_2^{\cdot}$ qui initie la réaction en chaîne de l'oxydation.

				ΔH_o kcal/mole	ΔS_o cal/degé	ΔG_o kcal/mole
Co ²⁺	+ O ₂	→	Co ³⁺ + O ₂ ⁻	+ 42	- 53	+ 58
Fe ²⁺	+ O ₂	→	Fe ³⁺ + O ₂ ⁻	+ 18	- 53	+ 34
V ²⁺	+ O ₂	→	V ³⁺ + O ₂ ⁻	- 6	- 53	+ 10
Cr ²⁺	+ O ₂	→	Cr ³⁺ + O ₂ ⁻	- 10	- 53	+ 6
Cu ²⁺	+ O ₂	→	Cu ²⁺ + O ₂ ⁻	+ 2	- 59	+ 20
Ce ³⁺	+ O ₂	→	Ce ⁴⁺ + O ₂ ⁻	+ 39	- 46	+ 53
Mn ²⁺	+ O ₂	→	Mn ³⁺ + O ₂ ⁻	+ 35	- 53	+ 51

c) Formation d'un composé métallique avec l'oxygène
et formation ultérieure d'un radical HO₂•



Mⁿ⁺(HX) étant l'ion métallique solvaté.

Il semble que le stéarate de cobalt (+2) réagisse ainsi. Un cas classique de formation de complexe réversibles avec l'oxygène est évidemment l'hémoglobine.

d) Réduction de certains cations par le transfert d'un
seul électron (décomposition des peroxydes)



	ΔH_o kcal/mole	ΔS cal/degré	ΔG_o kcal/mole
$Co^{3+} + H_2O_2 \longrightarrow Co^{2+} + HO_2\cdot + H^+$	+ 16	+ 30	+ 7
$Fe^{3+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{2+} + HO_2\cdot + H^+$	+ 39	+ 30	+ 30
$Cu^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Cu^+ + HO_2\cdot + H^+$	+ 55	+ 36	+ 46
$Ce^{4+} + H_2O_2 \longrightarrow Ce^{3+} + HO_2\cdot + H^+$	+ 19	+ 23	+ 12
$Mn^{3+} + H_2O_2 \longrightarrow Mn^{2+} + HO_2\cdot + H^+$	+ 23	+ 30	+ 14

e) Réduction des cations par réaction avec le substrat RH



L'importance relative de ces deux derniers modes d'action, varie d'une oléfine à l'autre et d'un peroxyde à l'autre.

2.5 Influence de la température

On distingue généralement trois zones de température :

0 - 40 °C 60 - 120 °C 200- 300 °C

La température diminue la période d'induction. On change la nature des produits d'oxydation lors du passage d'une zone à l'autre.

Chapitre 3

Analyse des traces métalliques dans l'huile essentielle de citron

A. Etude bibliographique

3.1 Généralités

Les traces métalliques se trouvent dans une matrice organique qui gêne et empêche même souvent leur détermination . La littérature classe les méthodes analytiques de ce genre en deux grands groupes.

3.1.1. Méthodes d'analyse des traces métalliques sans séparation de la matrice organique

- analyse par activation (15, 16, 17)
- spectrophotométrie d'absorbtion atomique sans flamme
(18, 19, 20, 21, 22, 23)
- fluorescence X

3.1.2. Méthodes exigeant une séparation préalable des traces

- spectrophotométrie d'émission de flamme (24, 25, 26)
- spectrophotométrie d'absorbtion atomique avec flamme (27, 28)
- spectroscopie d'émission (29, 30)
- spectrophotométrie visible et U.V. (31, 32)
- fluorimétrie (33, 34)
- polarographie conventionnelle (35, 36, 37, 38)
et techniques dérivées (36, 37, 38, 39)
 - polarographie dérivative /-polar. différentielle
"anodic stripping polarography"
 - polarographie en courant alternatif

- polarographie pulsée
- potentiométrie (40, 41) - principalement électrodes sélectives
- spectrométrie de masse (42, 43)
- dilution isotopique
- substoechiométrie

3.1.3. Méthodes de séparations des traces métalliques de la matrice organique (réf.44)

Le rendement R_A de la séparation de l'élément trace A est de

$$R_A = \frac{Q}{Q_0} \cdot 100$$

où : Q est la quantité de A retrouvée après séparation et
 Q_0 est la quantité initiale de A dans l'échantillon.

Les principaux facteurs intervenant dans le choix d'une méthode de séparation sont les suivants :

- méthode d'analyse utilisée par la suite
- quantité d'échantillon
- nombre, nature et concentration des traces en présence
- rendement de la séparation
- contaminations
- durée de l'analyse

Théoriquement , il devrait être possible de déterminer des concentrations extrêmement faibles de traces métalliques dans une matrice organique par concentration préalable.

En fait, on est limité par deux phénomènes :

- les pertes de traces par $\left\{ \begin{array}{l} \text{adsorption sur parois} \\ \text{volatilisation (calcination)} \end{array} \right.$

- les contaminations
 / par réactifs et solvants (eau)
 - par récipients
 \ par air ambiant

On peut diminuer les pertes par adsorption en réduisant le nombre, la surface et la nature des récipients utilisés. Cette dernière doit être parfaitement lisse, exempte de raies et d'irrégularités.

Il est souvent possible grâce aux traceurs radioactifs d'évaluer les pertes avec une précision suffisante. Quant'aux contaminations, il faut les réduire en simplifiant au maximum les manipulations, et en utilisant des méthodes très rapides exigeant peu de réactif.

Les récipients utilisés doivent être nettoyés de façon spéciale et différente selon les traces dosées. La nature de ceux-ci doit être telle qu'ils ne renferment aucun des éléments recherchés.

Il faut aussi diminuer le contact solution-atmosphère, cette atmosphère renfermant non seulement CO_2 , SO_2 , NH_3 , NO_2 mais également des traces métalliques ; Cu, Zn, Pb, Fe.

Voici une liste des méthodes de minéralisation les plus couramment employées ;

Minéralisation par voie humide (45)

Méthode	Avantages	Inconvénients
HNO_3 ou H_2SO_4 avec ou sans ad- jonction de H_2O_2 , HClO_4	-méthode généra- lement rapide -température suffisamment basse pour éviter les pertes par formation de silicates avec les parois des récip. verre et quartz	-donne des sulfates insolubles en présen- ce de métaux alcaline terreux qui adsorbent les traces d'autres métaux
HNO_3 + HClO_4	-perchlorates formés sont généralement solubles -températures utilisées encore plus basses que ci-dessus -méthode rapide	-composés contenant de l'azote hétéro- cyclique plus diffi- ciles à minéraliser -dangers d'explosion
HNO_3 + NH_4NO_3	-oxydation rapide -les traces se trouvent sous une forme permettant facilement leur détec- tation	-danger d'explosion lors du chauffage

Minéralisation par voie sèche (45, 46, 47, 48)

Méthode	Avantages	Inconvénients
Combustion dans la bombe à O_2	-pas de pertes par volatilisation -minéralisation complète	-reprise des résidus par réactif, d'où risques de contamina- tion
Combustion dans le flacon à O_2	-pas de pertes par volatilisation	-calcination de trop faibles quantités de substance suivant la concentration des éléments recherchés
Combustion à l'air sans support	-méthode rapide	-risques de pertes par volatilisation
Combustion à l'air avec support (Na_2CO_3 par ex.)	-méthode rapide	-risques de contami- nation par support

B. Partie pratique

3.2 Méthodes non destructives : analyse par activation

L'analyse a été faite à Grenoble au Centre d'Etudes Nucléaires. Le réacteur employé : "Mélusine" a un flux maximum de 10^{15} n/cm².sec

Préparation à l'irradiation

Des échantillons de 1 ml d'huile essentielle sont contenus dans des flacons en polyéthylène de 3 ml. Les flacons dont le polyéthylène contient une forte teneur en tungstène, (aucun autre métal n'a été décelé par le Centre d'E. N.) sont fournis par la société Kerdas (Dieppe, France) spécialement pour le Centre d'Etudes Nucléaires. Ils ont préalablement été lavés par une solution d'acide nitrique dilué 5 % en poids, à 60 °C et rincés trois fois à l'eau tridistillée, puis mis à sécher à l'étuve. On ne les manipule plus qu'avec des gants plastiques afin d'éviter entre autre de les contaminer par la transpiration des doigts (NaCl).

Appareillage

Au cours de ces expériences, le comptage s'est fait avec un détecteur au Ge/Li , avec un flux de 10^{12} n/cm².sec.

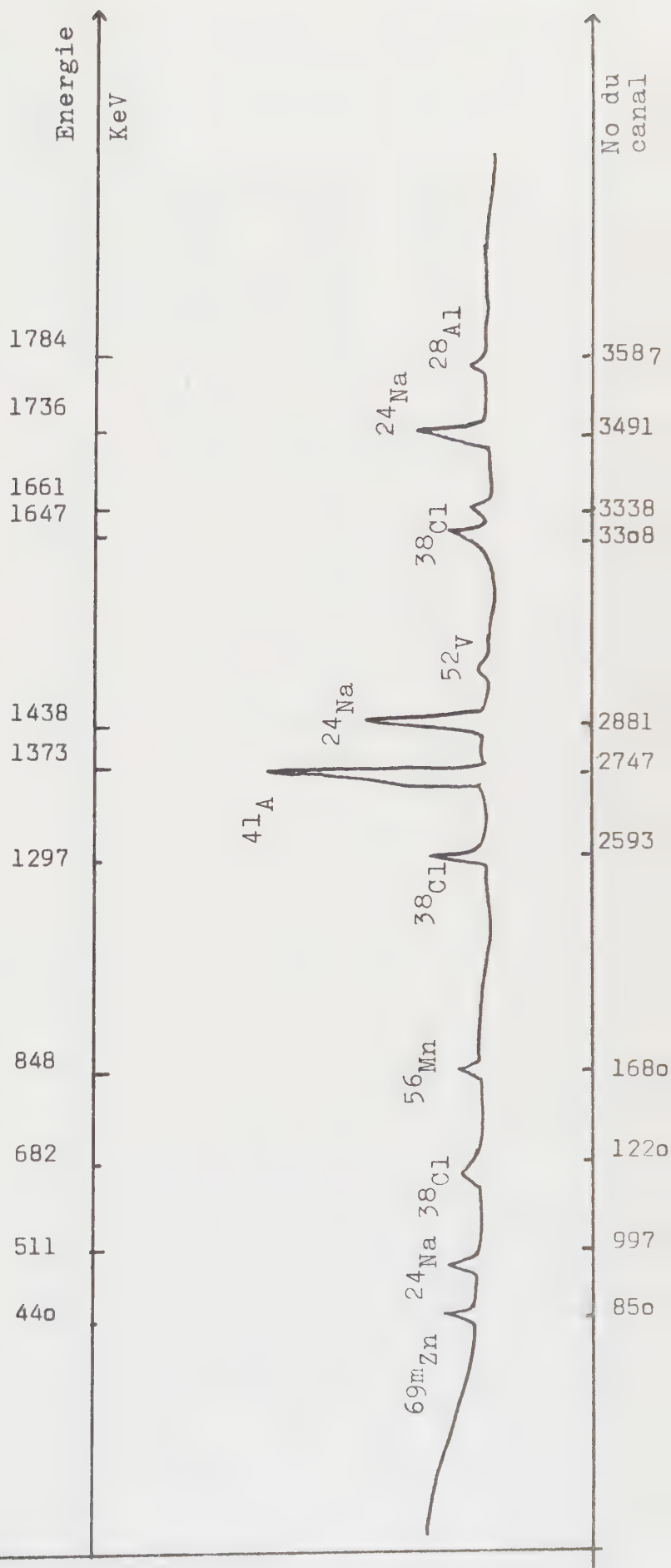
3.2.1. Etude qualitative

1ère irradiation : T.I. = 5 min.
 T.R. = 5 min.
 T.C. = 15 min.

Le spectre obtenu (figure no 1) nous montre la présence de ^{69m}Zn , ²⁴Na , ³⁸Cl , ⁵⁶Mn , ⁴¹A , ⁵²V , ²⁸Al , isotopes de courtes périodes dont l'origine est étudiée plus tard.

Figure no 1 : spectre γ obtenu après irradiation d'un échantillon d'huile essentielle. Etude qualitative - 1^o irradiation

intensité
du pic
nbre cps/min.



No du canal	Energie du pic (KeV)	Isotope	Période
850	440	^{69m}Zn	13,9 h.
997	511	^{24}Na	15 h.
1220	682	^{38}Cl	37 min.
1680	848	^{56}Mn	2,6 h.
2292	1449	^{38}Cl	37 min.
2593	1297	^{41}A	110 min.
2747	1373	^{24}Na	15 h.
2881	1438	^{52}V	3,8 min.
3308	1647	^{38}Cl	37 min.
3338	1661	^{38}Cl	37 min.
3491	1736	^{24}Na	15 h.
3587	1784	^{28}Al	2,3 min.

2ème irradiation : irradiation d'un échantillon de 1ml d'huile,
puis comptage

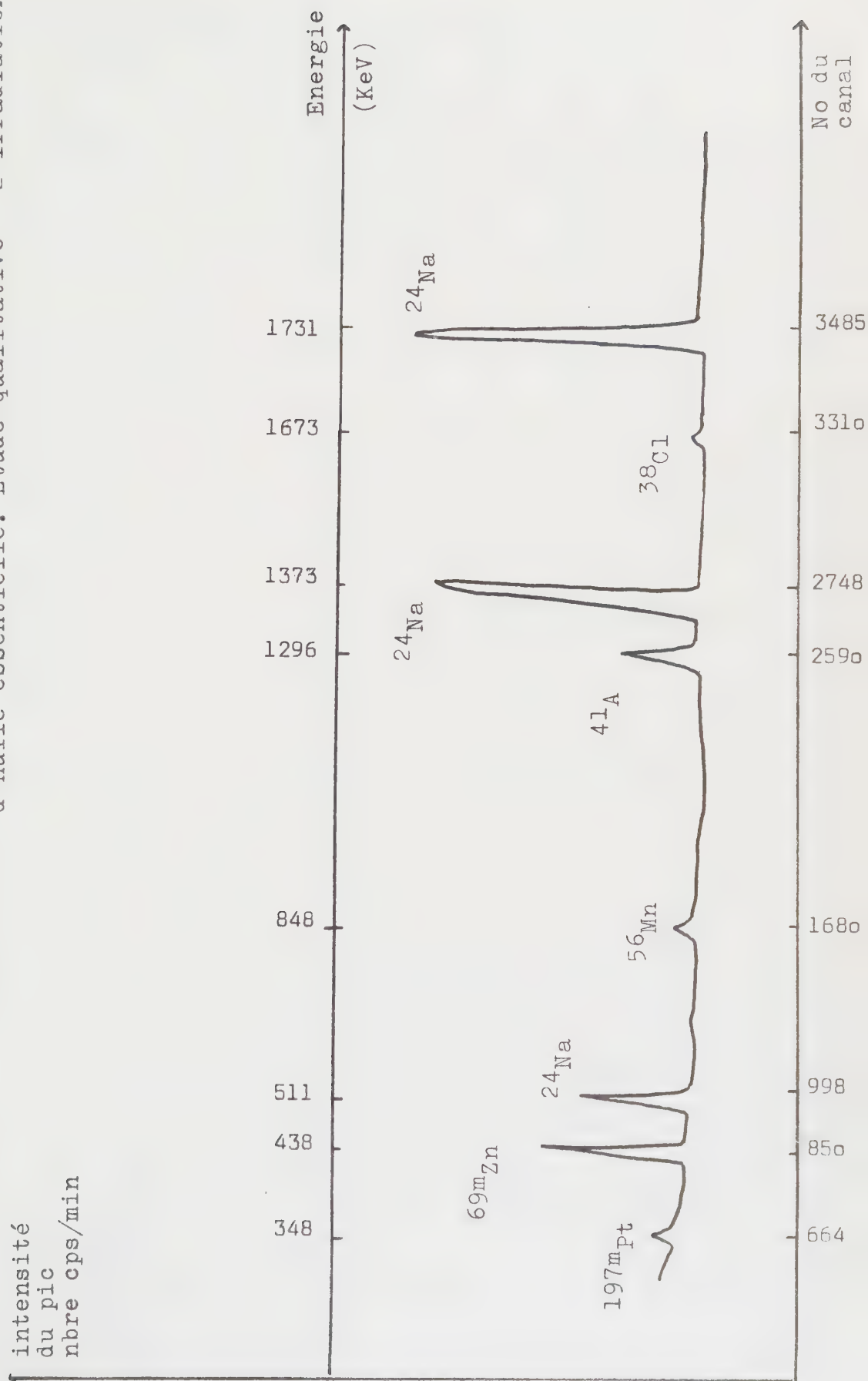
T.I. = 10 min.

T.R. = 2h. 30

T.C. = 10 heures

Voici le spectre obtenu (figure no 2)

Figure No 2 : spectre γ obtenu après irradiation d'un échantillon d'huile essentielle. Etude qualitative - 2^0 irradiation



No du canal	Energie du pic (KeV)	Isotope	Période
664	348	^{197m}Pt	1,3 h.
850	438	^{69m}Zn	13,9 h.
998	511	^{24}Na	15 h.
1680	848	^{56}Mn	2,6 h.
2590	1296	^{41}A	110 min.
2748	1373	^{24}Na	15 h.
3310	1647	^{38}Cl	37 min.
3485	1731	^{24}Na	15 h.

On retrouve donc le ^{69m}Zn , le ^{56}Mn , le ^{38}Cl , ^{41}A , ^{24}Na
et on voit apparaître ^{197m}Pt de période 1,3 heure.

Nous examinerons plus tard l'origine de ces radioisotopes.

3ème irradiation : irradiation d'un échantillon de 1 ml d'huile,
puis comptage

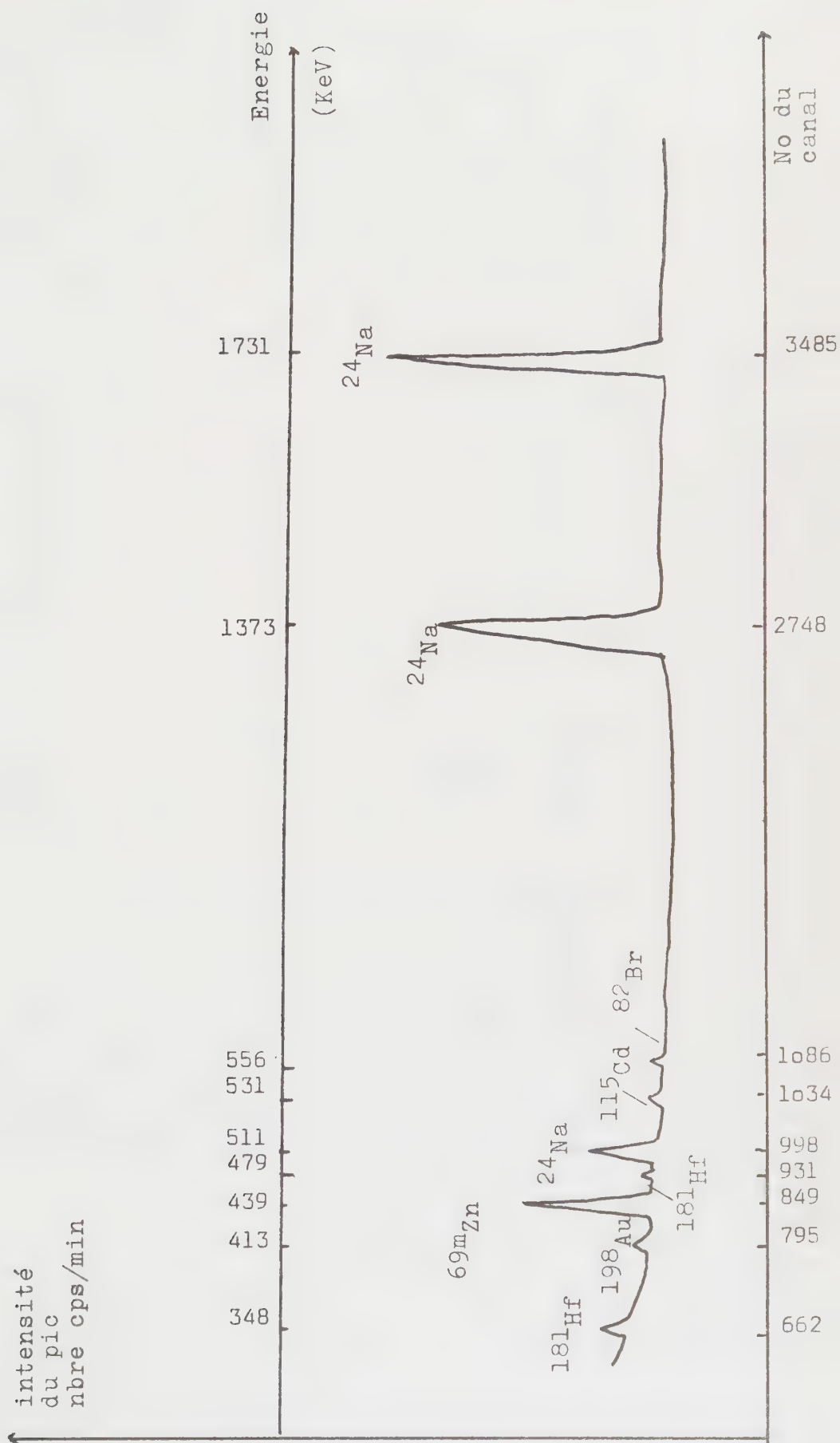
T.I. = 1 heure

T.R. = 28 heures

T.C. = 12 heures

Voici le spectre obtenu (figure no 3)

Figure no 3 : spectre γ obtenu après irradiation d'un échantillon d'huile essentielle. Etude qualitative - ^{30}O irradiation



No du canal	Energie du pic (KeV)	Isotope	Période
662	348	^{181}Hf	45 jours
795	413	^{198}Au	2,7 jours
849	439	$^{69\text{m}}\text{Zn}$	13,7 h.
931	479	^{181}Hf	45 jours
998	511	^{24}Na	15 h.
1034	531	^{115}Cd	2,3 jours
1086	556	^{82}Br	35,9 h.
2748	1373	^{24}Na	15 h.
3485	1731	^{24}Na	15 h.

On retrouve les pics du $^{69\text{m}}\text{Zn}$, ^{24}Na , et on voit apparaitre ^{181}Hf , ^{198}Au , ^{115}Cd , ^{82}Br , (voir périodes sur tableau).

Provenance des radioisotopes obtenus

Dans le réacteur utilisé, il s'agit essentiellement de neutrons thermiques d'énergie inférieure à 1 MeV.

Le réaction principale engendrée est donc une réaction (n, γ) . Mais il y a aussi des neutrons d'énergie supérieure à 1 MeV, qui donnent des réactions secondaires du type (n, p) , $(n, 2n)$ et (n, α) dont il faut tenir compte pour connaître l'origine des radioisotopes obtenus.

Réactions possibles

<u>Cas du ^{69m}Zn</u> $^{68}\text{Zn} \quad (n, \gamma) \quad ^{69m}\text{Zn}$ $^{68}\text{Ga}^* \quad (n, p) \quad ^{69m}\text{Zn}$ $^{70}\text{Zn} \quad (n, 2n) \quad ^{69m}\text{Zn}$ $^{72}\text{Ge} \quad (n, \alpha) \quad ^{69m}\text{Zn}$	<u>Cas du ^{56}Mn</u> $^{55}\text{Mn} \quad (n, \gamma) \quad ^{56}\text{Mn}$ $^{55}\text{Fe}^* \quad (n, p) \quad ^{56}\text{Mn}$ $^{57}\text{Mn}^* \quad (n, 2n) \quad ^{56}\text{Mn}$ $^{59}\text{Co} \quad (n, \alpha) \quad ^{56}\text{Mn}$
<u>Cas du ^{38}Cl</u> $^{37}\text{Cl} \quad (n, \gamma) \quad ^{38}\text{Cl}$ $^{37}\text{Ar}^* \quad (n, p) \quad ^{38}\text{Cl}$ $^{39}\text{Cl}^* \quad (n, 2n) \quad ^{38}\text{Cl}$ $^{41}\text{K} \quad (n, \alpha) \quad ^{38}\text{Cl}$	<u>Cas du ^{24}Na</u> $^{23}\text{Na} \quad (n, \gamma) \quad ^{24}\text{Na}$ $^{23}\text{Mg}^* \quad (n, p) \quad ^{24}\text{Na}$ $^{25}\text{Na}^* \quad (n, 2n) \quad ^{24}\text{Na}$ $^{27}\text{Al} \quad (n, \alpha) \quad ^{24}\text{Na}$
<u>Cas du ^{52}V</u> $^{51}\text{V} \quad (n, \gamma) \quad ^{52}\text{V}$ $^{51}\text{Cr}^* \quad (n, p) \quad ^{52}\text{V}$ $^{53}\text{V}^* \quad (n, 2n) \quad ^{52}\text{V}$ $^{55}\text{Mn} \quad (n, \alpha) \quad ^{52}\text{V}$	<u>Cas du ^{28}Al</u> $^{27}\text{Al} \quad (n, \gamma) \quad ^{28}\text{Al}$ $^{27}\text{Si}^* \quad (n, p) \quad ^{28}\text{Al}$ $^{29}\text{Al}^* \quad (n, 2n) \quad ^{28}\text{Al}$ $^{31}\text{P} \quad (n, \alpha) \quad ^{28}\text{Al}$

<u>Cas du ^{181}Hf</u> $^{180}\text{Hf} \quad (n, \gamma) \quad ^{181}\text{Hf}$ $^{180}\text{Ta}^* \quad (n, p) \quad ^{181}\text{Hf}$ $^{182}\text{Hf}^* \quad (n, 2n) \quad ^{181}\text{Hf}$ $^{184}\text{W} \quad (n, \alpha) \quad ^{181}\text{Hf}$	<u>Cas du ^{198}Au</u> $^{197}\text{Au} \quad (n, \gamma) \quad ^{198}\text{Au}$ $^{197}\text{Hg}^* \quad (n, p) \quad ^{198}\text{Au}$ $^{199}\text{Au}^* \quad (n, 2n) \quad ^{198}\text{Au}$ $^{201}\text{Tl}^* \quad (n, \alpha) \quad ^{198}\text{Au}$
<u>Cas du ^{115}Cd</u> $^{114}\text{Cd} \quad (n, \gamma) \quad ^{115}\text{Cd}$ $^{114}\text{In}^* \quad (n, p) \quad ^{115}\text{Cd}$ $^{116}\text{Cd} \quad (n, 2n) \quad ^{115}\text{Cd}$ $^{118}\text{Sn} \quad (n, \alpha) \quad ^{115}\text{Cd}$	<u>Cas du ^{82}Br</u> $^{81}\text{Br} \quad (n, \gamma) \quad ^{82}\text{Br}$ $^{81}\text{Kr}^* \quad (n, p) \quad ^{82}\text{Br}$ $^{83}\text{Br}^* \quad (n, 2n) \quad ^{82}\text{Br}$ $^{85}\text{Rb} \quad (n, \alpha) \quad ^{82}\text{Br}$
<u>Cas de ^{41}A</u> $^{40}\text{A} \quad (n, \gamma) \quad ^{41}\text{A}$ $^{40}\text{K}^* \quad (n, p) \quad ^{41}\text{A}$ $^{42}\text{A}^* \quad (n, 2n) \quad ^{41}\text{A}$ $^{44}\text{Ca} \quad (n, \alpha) \quad ^{41}\text{A}$	

Les éléments marqués avec un astérisque sont radioactifs, ces possibilités sont donc à éliminer.

En résumé, nous sommes donc en présence de traces de :
 Zn (ou Ge) , Mn (ou Co) , Cl (ou K) , Na, V, Mn, Al, Au, Cd(ou Sn)
 Br (ou Rb) , Ca .

Il existe donc un doute au sujet des "couples d'éléments"
 (Zn, Ge) , (Mn, Co) , (Cl , K) , (Cd, Sn) et (Br, Rb). Seules
 d'autres méthodes d'analyse nous permettrons de lever ces incerti-
 tudes. D'autre part l'analyse par activation ne nous donne pas
 l'image complète de toutes les traces contenues dans l'huile ;
 certains éléments, le Fe par exemple, ont une section efficace
 d'activation trop faible pour pouvoir être détectés dans les con-
 ditions de nos irradiations.

3.2.2. Etude quantitative

Nous avons fait l'étude quantitative pour les éléments nous
 donnant un pic d'intensité mesurable. A savoir :

Zn, Mn, Na, V et Al .

Nous avons donc irradié, puis compté un échantillon de 1 ml
 d'huile essentielle de citron, en même temps que des témoins :

1 témoin de 20 μ g de Zn
 1 témoin de 10 μ g de Na
 1 témoin de 10 μ g de V
 1 témoin de 10 μ g de Al
 1 témoin de 10 μ g de Mn

Conditions d'irradiation : T.I. = 10 min.
 T.R. = 2 h. 30
 T.C. = 15 min.

Echantillon d'huile :

Élément	t_1 (h) $t_0 +$	Période (h)	Nbre coups donnés par pic+ bruit fond	Bruit de fond	Nbre de coups donnés par pic
^{69m}Zn	0,04167	13,9	51.394	46.747,5	4.646,5
^{56}Mn	0,04167	2,6	46.754	45.643	1.111
^{24}Na	0,04167	15	46.463	19.607,5	26.855,5
^{52}V	0,04167	0,0633	10.688	8.550	2.138
^{28}Al	0,04167	0,0383	7.291	6.056	1.235
Témoins :					
^{69m}Zn	1,25	13,9	5.210	3.339	1.871
^{56}Mn	-	2,6	-	-	-
^{24}Na	1,55	15	22.963	4.611,5	18.351,5
^{52}V	1,85	0,0633	10.909	3.264	7.645
^{28}Al	-	0,0383	-	-	-

Remarque : pour les éléments Mn et Al, nous avons procédé à une nouvelle irradiation de :

1 témoin de 10 μg de Mn + dosimètre Na

1 témoin de 10 μg de Al + dosimètre Na

dans les conditions suivantes :

T.I. = 10 min.

T.C. = 15 min.

Voici les résultats obtenus :

Element	t_1 (h)	période (h)	Nbre coups donnés par pic+bruit de fond	Bruit de fond	Nbre coups donnés par pic
^{56}Mn	5	2,6	325.995	45.720	280.275
dosimètre ^{24}Na	0,5	15	14.700	4.186	10.514
^{28}Al	0,0416	0,0383	19.488	5.460	14.028
dosimètre ^{24}Na	0,3833	15	22.562	5.110	17.452

Activité au temps t_0 :

L'activité au temps t_0 est donnée par la formule (49) :

$$A_0 = N \frac{0,693/T}{1 - e^{-0,693 T.C./T}} e^{0,693 t_1 / T}$$

Les temps sont calculés en heures.

Les calculs ont été effectués au moyen de la calculatrice Hewlett-Packard programmée à cet effet.

(Voir programme dans annexe des programmes).

Résultats des calculs :

échantillon huile :

élément	$t_1 =$ $t_0 + (h)$	période (h)	N	A_0
^{69m}Zn	0,04167	13,9	4.646,5	4.685,24
^{56}Mn	0,04167	2,6	1.111,0	1.161,25
^{24}Na	0,04167	15	26.855,5	27.062,93
^{52}V	0,04167	0,0633	2.138,0	9.873,73
^{28}Al	0,04167	0,03833	1.235,0	11,988,04
<u>témoins</u> :				
élément	N témoin	N dosimètre Na	A_0 témoin	A_0 dosimètre Na
^{69m}Zn	1.871	18.351,5	2.003,74	19.827,91
^{56}Mn	280.275	10.514,0	1.098.384,65	10.821,95
^{24}Na	ce témoin sert de dosimètre pour l'échantillon d'huile et les témoins de ce tableau, sauf Mn et Al.			
	18.351,5	18.351,5	19.827,91	19.827,91
^{52}V	-	18.351,5	-	19.827,91
^{28}Al	14.960,0	17.452,0	145.215,46	17.866,61

Calcul de la concentration des traces

On compare les activités au temps t_0 du métal dans l'échantillon avec celle du métal dans le témoin; pour un même flux de neutrons .

Pour corriger les variations de flux, on a irradié en même temps que les échantillons et les témoins : 10 μ g de Na, servant de dosimètre Na.

exemple de calcul : pour le zinc

les témoins de Zn contiennent 20 μ g de Zn

$(A_o^{Zn})'_t$ = activité au temps t_0 du Zn dans le témoin ramené au même flux que l'échantillon

$(A_o^{Zn})_e$ = activité au temps t_0 du Zn dans l'échantillon

x = quantité de Zn dans l'échantillon μ g/ml

$(A_o^{Zn})_t$ = activité au temps t_0 de Zn dans le témoin donnée par le comptage

cps_{dt} = nombre de coups/seconde au temps t_0 du dosimètre Na irradié en même temps que le témoin

cps_{de} = nombre de coups/seconde au temps t_0 du dosimètre Na irradié en même temps que l'échantillon.

$(A_o^{Zn})_t$ = 2003,74 cps et cps_{dt} = 19.827,91 cps

$(A_o^{Zn})_e$ = 4685,24 cps et cps_{de} = 19.827,91 cps

$(A_o^{Zn})'_t$ = $(A_o^{Zn})_t \cdot \frac{\text{cps}_{dt}}{\text{cps}_{de}}$ et $\frac{(A_o^{Zn})'_t}{(A_o^{Zn})_e} = \frac{20}{x}$

Résultats :

Element	1 ml échant. A_o	dosimètre Na échant. A_o	témoin A_o	dosimètre Na témoin A_o	masse élem. dans témoin μg	masse élem. dans échant. $\mu g/ml$
^{69m}Zn	4.685,24	19.827,91	2003,74	19.827,91	20	46,7
^{56}Mn	1.161,25	19.827,91	1098.384,66	10.821,95	10	0,005
^{24}Na	27.062,93	19.827,91	19827,91	19.827,91	10	13,6
^{52}V	9.873,73	19.827,91	-	19.827,91	10	-
^{28}Al	11.988,04	19.827,91	145.215,46	17.866,61	10	0,074

3.3 Analyses exigeant une séparation des traces métalliques3.3.1. Méthodes envisagées

Nous avons utilisé deux méthodes de séparations par extraction et deux méthodes de destruction de l'huile.

a) extraction des traces de métaux par un complexant

Nous avons extrait des échantillons d'huile par une solution aqueuse d'EDTA de pH = 10, mais l'analyse des extraits n'a pas donné les résultats escomptés. Il semble que les métaux seraient

fortement complexés dans l'huile.

- b) extraction des traces de métaux au moyen de la méthode recommandée par le British Bureau of Standards (50)

Cette méthode (extraction des traces par HCl dilué) n'a malheureusement pas donné de bons résultats étant donné la trop grande dilution des traces.

- c) minéralisation par voie humide

Nous avons utilisés les acides suprapurs "Merck" et avons fait plusieurs essais pour adapter les méthodes trouvées dans la littérature à notre échantillon. Voici un tableau de nos essais. Nous avons évité les méthodes à l'acide perchlorique pour des raisons de sécurité.

Réactif	Huile	Remarques
1) HNO_3 (10 ml)	1 ml	- à froid : réaction très violente due à la formation de composés nitrés instables.
2) H_2SO_4 (10 ml)	1 ml	- à chaud 300°C . très bonne minéralisation mais demande 24 heures de chauffage.
3) H_2SO_4 (10 ml) + HNO_3 adj.par portion 1ml	1 ml	- à chaud à 150°C . minéralisation encore plus longue qu'avec H_2SO_4 seul. Formation de composés plus difficiles à oxyder.
4) H_2SO_4 (10 ml) + H_2O_2 adj.par portion 0,5ml	1 ml	- à chaud à 170°C . très bonne minéralisation, assez rapide mais traces de Fe présentes dans H_2O_2 .

Pour la minéralisation de l'huile, nous avons fait construire l'appareil suivant, en quartz (figure 4) par la Société Electrothermique de la Tour-de-Trême - CH

appareillage :

- (1) entonnoir rôdé permettant l'introduction des réactifs
- (2) réfrigérant à boules
- (3) piège permettant de récupérer éventuellement les complexes volatils que pourraient former les traces métalliques avec des constituants de l'huile
- (4) ballon fond conique de 150 ml

La minéralisation par voie humide provoque une grande dilution des traces et le résidu ne se prête pas à la détermination des traces métalliques. En outre, il y a contamination par les réactifs. Aussi lui avons-nous préféré la méthode par voie sèche.

d) minéralisation par voie sèche

Afin d'éviter les contaminations par l'air, les calcinations s'effectuent dans une chambre d'évaporation (figure 5) .

La calcination de l'huile s'effectue sans support : l'huile, 5 ml au minimum par échantillon, est introduite dans des creusets de quartz ou de platine, placé sous une lampe I.R. et porté à 180 °C pendant 1 heure, afin d'évaporer les parties les plus volatiles de l'huile, puis au four à 850 °C pendant 2 heures.

La calcination peut encore se faire avec support : on procède comme ci-dessus, mais en présence de 0,010 g de Na_2CO_3 pro anal. Merck dans chaque creuset.

Figure 4 : Schéma de l'appareillage pour la minéralisation par voie humide

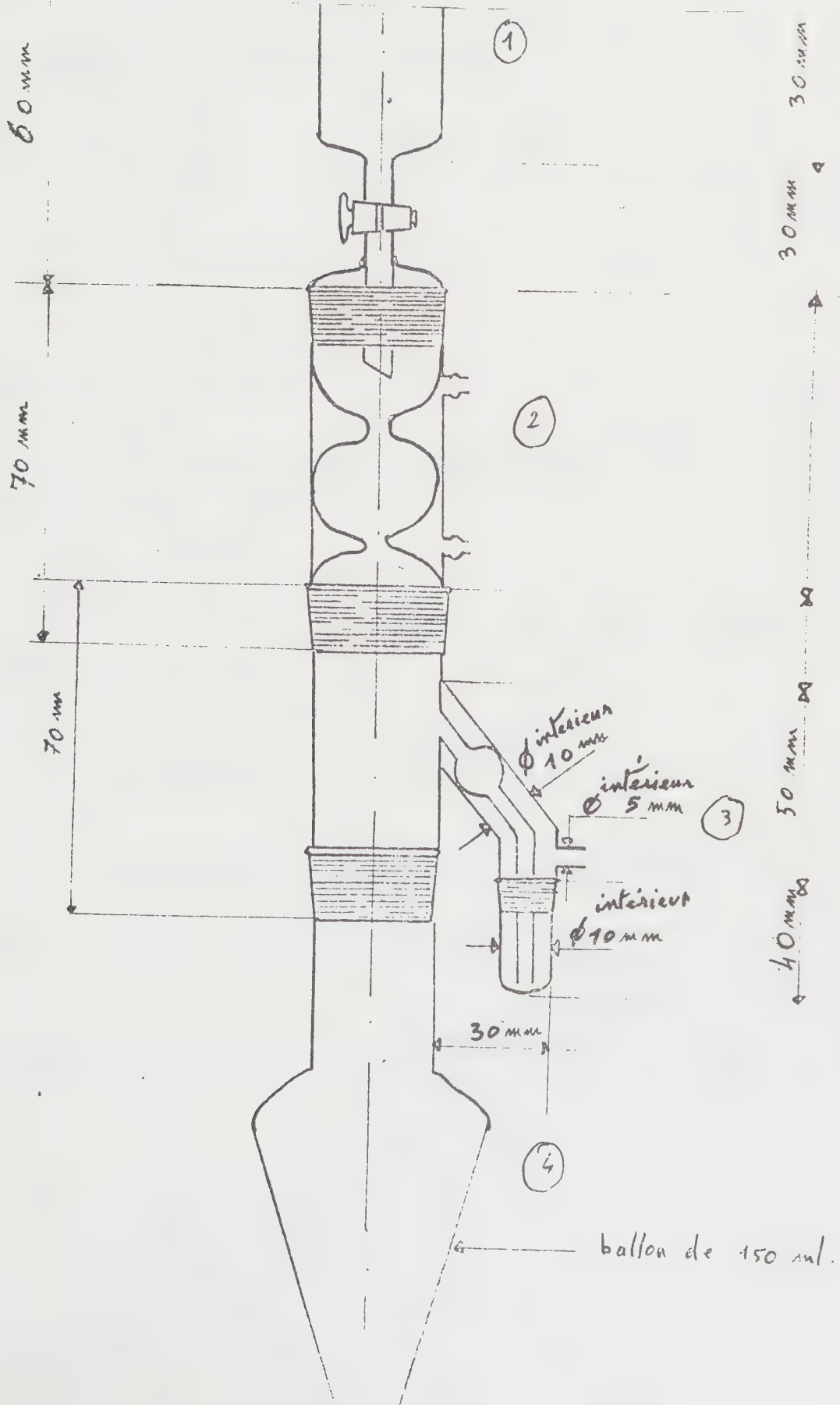
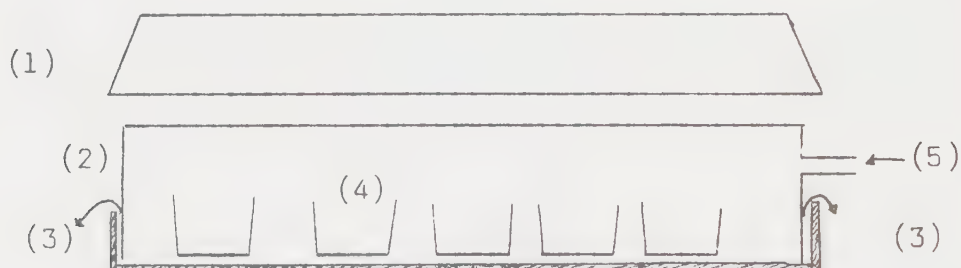


Figure 5 : chambre d'évaporation

- (1) Lampe Infra Rouge
- (2) Enceinte pyrex (contre contamination atmosphérique)
- (3) Sortie de l'air
- (4) Creuset en quartz (ou platine)
- (5) Entrée d'air filtré



Reprise du résidu des calcinations :

Après refroidissement, le résidu de la calcination est repris par 1 ml d' HCl concentré à chaud, le traitement ultérieur dépendant de la méthode d'analyse choisie.

3.3.2. Conclusion

De toutes les méthodes de séparations essayées, la plus intéressante est la minéralisation par voie sèche du fait de sa simplicité et de sa rapidité.

Les extractions des traces par EDTA ou par la méthode du British Bureau of Standards (50) n'ont pas donné dans notre cas les résultats escomptés.

3.3.3. Choix de la méthode d'analyse

Parmi les méthodes citées précédemment, nous avons choisi la polarographie conventionnelle et ses techniques dérivées pour 4 raisons :

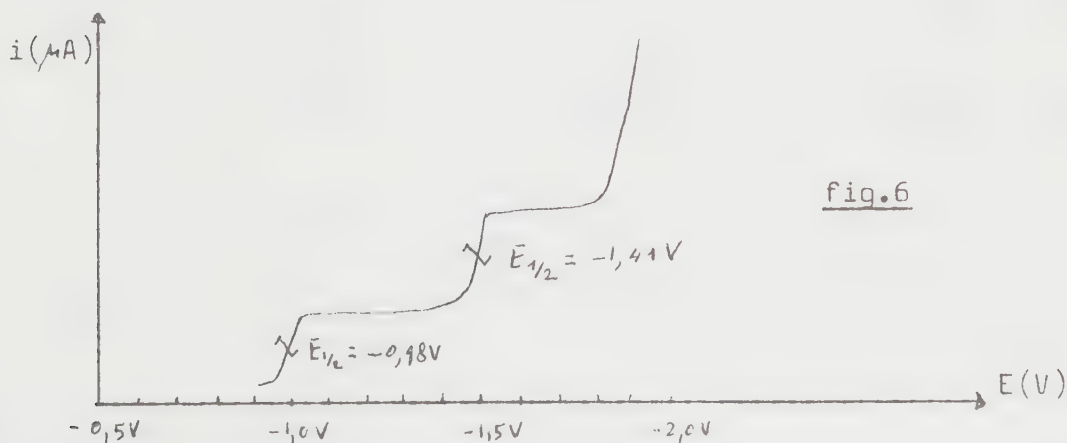
- simplicité de la préparation de l'analyse
- rapidité de l'analyse
- méthode donnant une vue qualitative et quantitative des traces
- méthode utilisable dans un domaine de concentration des traces assez large (de $10^{-5}M$ à $10^{-7}M$ environ).

3.3.4. Analyse qualitative

Nous avons calciné 5 ml d'huile, sans support et repris le résidu par 6 cc d'une solution de NaCl 0,1 M; de pH = 6. Nous avons effectué une polarographie normale dans les conditions suivantes :

- sensibilité: $1 \mu A$
- scan rate : 2 mV/sec
- drop time : 1 sec
- balayage : de - 0,5 V à - 2,0 V
- 0,1 V / inch
- sample duration : 10 msec
- électrode de référence $Ag/AgCl_{sat}/KCl$ 0,1 M

Nous avons obtenu le polarogramme de la figure 6 :



Nous constatons 2 vagues de réduction situées à

- 0,98 V

- 1,41 V

Recherche théorique d'après les potentiels de demi-vague

Dans la littérature (36) le potentiel du Zn (II) en milieu 0,1 M KCl est : - 0,995 V

et celui du Fe(II) : - 1,30 V

par rapport à une électrode S.C.E. ; or l'électrode de référence utilisée ($\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}/\text{KCl } 0,1 \text{ M}$) présente vis à vis de la S.C.E. un potentiel de + 0,047 V. On peut donc calculer les potentiels que nous aurions obtenu expérimentalement avec la S.C.E. :

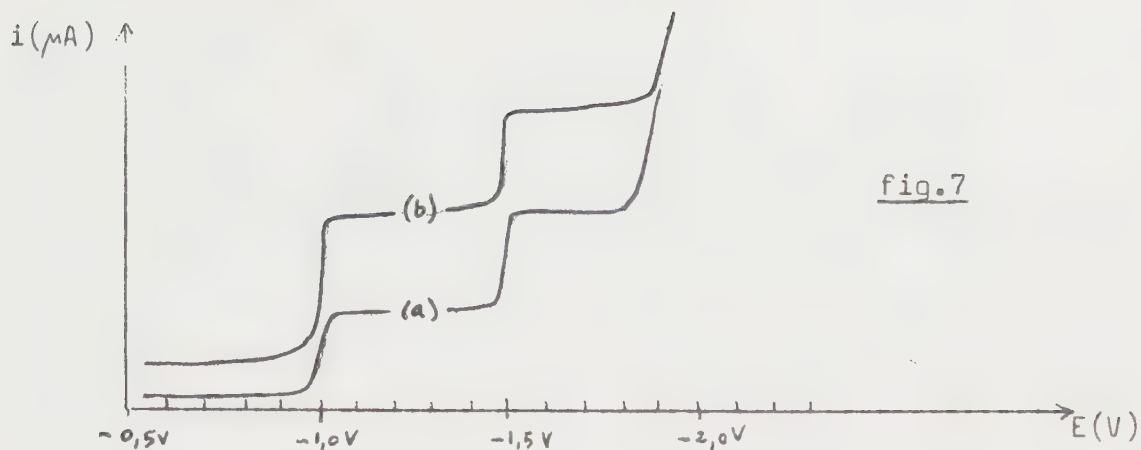
pour le Fe(II) - 1,41 - 0,047 = - 1,457 V

pour le Zn(II) - 0,98 - 0,047 = - 1,027 V

Valeurs très proches des valeurs de la littérature. Nous pensons donc être en présence des vagues de réduction du Fe(II) et du Zn(II) .

Recherche pratique au moyen d'étalons internes

Nous avons donc rajouté 20 μl d'une solution de Zn 10^{-3} M. et avons enregistré le polarogramme dans les mêmes conditions que précédemment. Nous avons obtenu la figure 7 :



Nous constatons que :

- il n'y a pas d'apparition d'une nouvelle vague de réduction
- la hauteur du courant de diffusion de la vague de $E_{\frac{1}{2}} = -0,98 \text{ V}$ a augmenté

Nous sommes donc bien en présence de Zn(II) . Ce qui confirme les résultats obtenus lors de l'analyse par activation. Nous avons fait la même étude sur un blanc et n'avons pas trouvé de vague de réduction dans nos conditions expérimentales.

Il fallait s'assurer que d'autres traces en quantité plus faibles ne se trouvaient pas dans l'huile, c'est pourquoi nous avons choisi pour la suite de cette étude la polarographie alternative.

Après calcination de 5 ml d'huile dans un creuset de quartz, le résidu est repris par 6 ml d'oxalate d' NH_4 0,25 M - pH = 4 ; on effectue une polarographie alternative sur la solution, dans les conditions suivantes :

Appareil utilisé	P.A.R. (Princeton Applied Research Corporation)
sensibilité	: $1 \mu\text{A}$
scan rate	: 1 mV/sec
low pass filter	: 1 sec
pulse	: 10 mV

Frequency : 80 Hz
 Drop time : 5 sec.
 Balayage : de 0,0 V à -1,5 V
 Electrode de référence : Ag/AgCl_{sat}/KCl 0,1 M
 On obtient le polarogramme de la figure 8 :

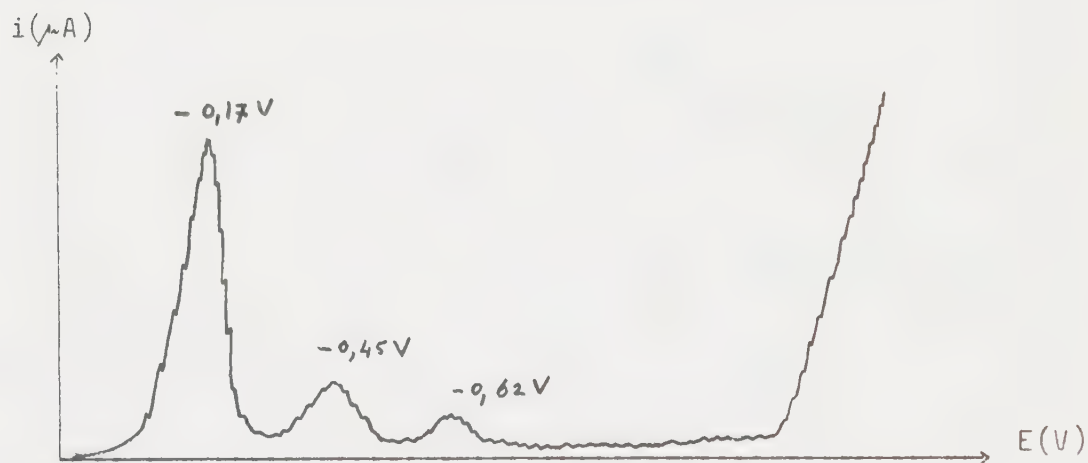


Fig.8 : polarogramme obtenu par polarographie alternative sur un résidu de calcination de l'huile

Nous obtenons trois pics à $-0,17 V$
 $-0,45 V$
 $-0,62 V$

} par rapport à l'électrode
 Ag/AgCl_{sat}

La littérature donne (51) pour le même milieu, oxalate d' NH_4 - pH = 4 :

pour le Fe(III) un $E_{\frac{1}{2}}$ de $-0,23 V$
 pour le Pb(II) un $E_{\frac{1}{2}}$ de $-0,50 V$
 pour le Cd(II) un $E_{\frac{1}{2}}$ de $-0,63 V$

} par rapport à S.C.E.

Or le potentiel de Ag/AgCl_{sat} par rapport à S.C.E est de $+0,047 V$
 On a donc :

pour le Fe(III) $-0,17 - 0,047 = -0,217$ V

pour le Pb(II) $-0,45 - 0,047 = -0,497$ V

pour le Cd(II) $-0,62 - 0,047 = -0,667$ V

valeurs très proches de la littérature. Nous pensons donc être en présence de Fe(III) , Pb(II) , Cd(II).

Pour nous en assurer, recherche pratique au moyen d'étalons internes. Nous avons donc ajouté successivement dans la solution des étalons internes de

Fe	10 μ l d'une solution $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$	0,01 M
Cd	10 μ l d'une solution CdSO_4	$4 \cdot 10^{-4}$ M
Pb	10 μ l d'une solution $\text{Pb}(\text{AcO})_2$	$1,13 \cdot 10^{-2}$ M

Recherche du Fe^{+3} par étalon interne

Nous avons ajouté 10 μ l de la solution de fer et avons enregistré le polarogramme dans les mêmes conditions que précédemment. Nous obtenons le polarogramme de la figure 9 :

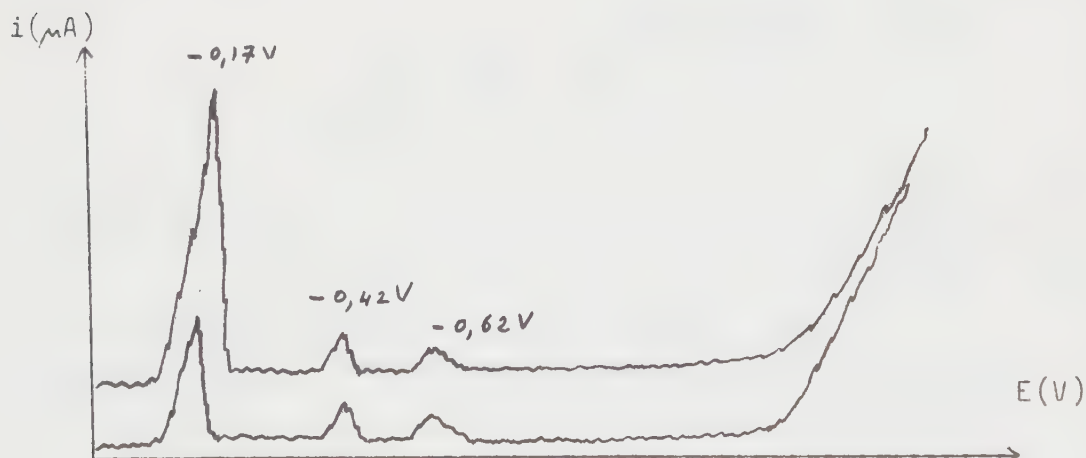


Fig.9 : étalonnage interne du Fe

L'examen des polarogrammes (a) et (b) montre le pic du fer ($-0,17$ V) dans l'échantillon.

Recherche du Pb^{+2} et du Cd^{+2}

Nous avons procédé de la même façon pour le Pb^{+2} et le Cd^{+2} et localisons le pic du Pb^{+2} à $-0,45$ V, et celui du Cd^{+2} à $-0,62$ V.

Nous avons fait la même étude sur un blanc d'oxalate simple et n'avons pas trouvé ces pics dans les mêmes conditions.

Conclusion

Nous sommes donc en présence de traces de Fe^{+3} , Zn^{+2} , Pb^{+2} et Cd^{+2} . Ces traces se trouvent bien dans l'huile, car les blancs analysés dans les mêmes conditions de sensibilité n'en décèlent pas. Nous allons donc les analyser quantitativement en faisant chaque fois des analyses de blancs.

3.3.5. Analyse quantitative

3.3.5.1. Etude du Cd^{+2}

Préparation des échantillons

Huit échantillons d'huile essentielle, dont quatre renferment un étalon interne ($10\mu l$) d'une solution de $CdSO_4$ $0,04 \cdot 10^{-2}$ M soit $0,448 \mu g$ de Cd^{+2}) ont été calcinés simultanément. On a traité de la même manière 4 blancs d'eau distillée.

Les huit échantillons sont prélevés dans la même huile. Voici le schéma de cette opération, chaque rectangle représentant un creuset en quartz.

5 ml huile
essentielle

Echantillon 1

5 ml huile
essentielle
+ 0,448 μg Cd^{+2}

Echant.1+ étalon interne

5 ml H_2O
distillée

Blanc 1

5 ml huile
essentielle

Echantillon 2

5 ml huile
essentielle
+ 0,448 μg Cd^{+2}

Echant.2 +étalon interne

5 ml H_2O
distillée

Blanc 2

5 ml huile
essentielle

Echantillon 3

5 ml huile
essentielle
+ 0,448 μg Cd^{+2}

Echant.3 +étalon interne

5 ml H_2O
distillée

Blanc 3

....

Echantillon 4

....

Echant.4 +étalon interne

...

Blanc 4

Le calcinat est traité par 1 ml d'acide chlorhydrique concentré pro anal. Merck, à chaud, 4 ml d'une solution aqueuse d'oxalate d'ammonium 0,25 M et la solution amenée au pH = 4 par adjonction de NaOH suprapur Merck (40 %) - (de 1 à 1,5 ml environ), puis le tout porté à 10 ml dans un ballon jaugé.

Analyse polarographique

Chaque solution a été étudiée par polarographie alternative dans les conditions suivantes :

Appareil : module électrochimique P.A.R.

Sensibilité	:	200 μ A
Balayage de potentiel	:	-0,5 V à -1,5 V
scan rate	:	1 mV/sec
étalement		
échelle potentiel	:	0,1 V/inch
low pass filter	:	1 sec.
temps de goutte	:	5 sec.
pulse	:	10 mV
fréquence	:	80 Hz
repère hauteur Hg	:	25,5
électrode référence	:	Ag/AgCl _{sat}

Notations utilisées :

i_{d_x} = courant de diffusion d'un échantillon inconnu

$i_{d_{x+e}}$ = courant diffusion d'un échantillon inconnu avec étalon interne

I_{d_e} = courant diffusion d'0 à l'étalon interne seul

Tableau des résultats

No de l'échan- tillon	$i_{d_{x+e}}$ (nA)	i_{d_x} (nA)	$i_{d_e} = i_{d_{x+e}} - i_{d_x}$ (nA)
1	110	8	102
2	152	12	140
3	134	12	122
4	130	10	120

- la valeur du blanc est négligeable.

- exemple de calcul

- . échantillon no 1 : -rappelons que l'étalon interne consiste en 0,448 μg de Cd^{+2} ajoutés à l'huile.

$$\frac{i_{d_e}}{i_{d_x}} = \frac{0,448}{x} \quad x = \frac{0,448 \cdot 8}{102} = 3,5 \cdot 10^{-2} \mu\text{g}$$

- . pour 5 ml d'huile : $\frac{3,5 \cdot 10^{-2}}{5} = 0,7 \cdot 10^{-2} \mu\text{g}$ par ml huile

No de l'échan- tillon	Concentration de Cd dans huile $\mu\text{g/ml}$ huile
1	0,0070
2	0,0077
3	0,0088
4	0,0074

$$\bar{x} = 7,725 \cdot 10^{-3} \mu\text{g/ml d'huile}$$

$$\begin{aligned} \text{Déviation standard sur } x & : \sigma_x = 7,72 \cdot 10^{-4} \\ \text{Déviation standard sur la moyenne } \bar{x} & : \sigma_{\bar{x}} = 3,86 \cdot 10^{-4} \\ \text{Erreur probable sur } x & : p_{ex} = 5,21 \cdot 10^{-4} \\ \text{Erreur probable sur la moyenne } \bar{x} & : p_{e\bar{x}} = 2,60 \cdot 10^{-4} \end{aligned}$$

On peut donc donner le résultat suivant : la concentration en Cd (II) de l'huile est de

$$7,7 \pm 0,4 \text{ ng/ml}$$

3.3.5.2. Etude du Pb⁺²

Préparation des échantillons

Huit échantillons d'huile essentielle, dont quatre renferment un étalon interne (10 μl d'une solution $0,225 \cdot 10^{-3} \text{M}$ en Pb ⁺², soit 0,46 μg Pb⁺²) ont été calcinés simultanément. On a traité de la même manière, 4 blancs d'eau distillée.

Tableau des résultats

No de l' échantillon	$i_{d_{x+e}}$ (nA)	i_{d_x} (nA)	$i_{d_e} = i_{d_{x+e}} - i_{d_x}$ (nA)
1	31	12,1	18,9
2	30	12	18
3	30	14	16
4	30	10	20

No de l' échantillon	récipient de calcination	méthode utilisée	quantité de Pb dans échant. 10 ml (µg)	concentration de Pb dans huile (µg/ml huile)
1	creuset en quartz	polarogr. alternative	0,294	0,059
2	"	"	0,306	0,061
3	"	"	0,402	0,081
4	"	"	0,230	0,046

* valeur des blancs négligeable dans tous les cas

$$\bar{x} = 6,17 \cdot 10^{-2} \text{ µg/ml d'huile}$$

$$s_x = 1,44 \cdot 10^{-2}$$

$$s_{\bar{x}} = 7,23 \cdot 10^{-3}$$

$$p_{ex} = 9,75 \cdot 10^{-3}$$

$$p_{e\bar{x}} = 4,87 \cdot 10^{-3}$$

On peut donc donner le résultat suivant : la concentration en Pb^{+2} de l'huile est de :

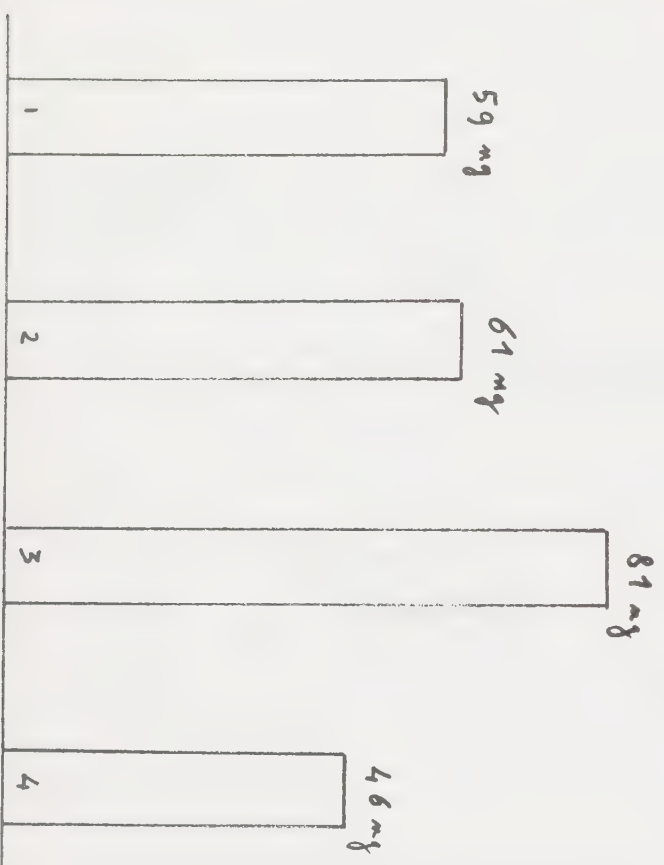
$$62 \pm 7 \text{ ng/ml}$$

Voici un tableau récapitulatif des analyses du Pb^{+2} et du Cd^{+2} .

On remarque que les échantillons no 3 semblent avoir été contaminé par du Pb^{+2} et du Cd^{+2} lors des manipulations. Malgré tout, ces résultats sont compris dans le calcul statistique.

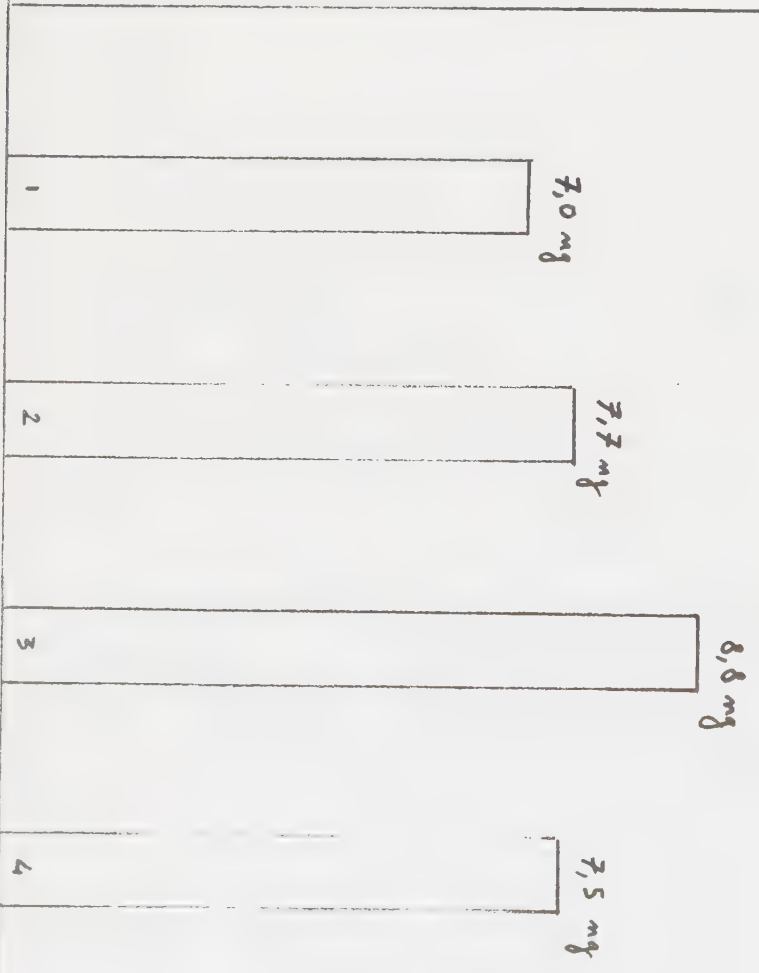
ANALYSE DU PLOMB

concentration en ng/ml d'huile



ANALYSE DU CADMIUM

concentration en ng/ml d'huile



N° de l'analyse.

3.3.5.3. Etude du Fe^{+3}

Préparation des échantillons

Nous avons fait les calcinations suivantes avec support :
dans chaque creuset : 0,01 g de Na_2CO_3 anhydre pro anal. Merck.

Les calcinations ont été faites dans des creusets de quartz:

5 ml huile
essentielle
+ 0,01 g Na_2CO_3

Echantillon 1

5 ml huile essent.
+ 0,01 g Na_2CO_3
+ 8 μg Fe^{+3}

Echant. 1 + étalon interne

0,01 g
 Na_2CO_3

Blanc 1

3 ml huile
essent.
+ 0,01 g Na_2CO_3

Echantillon 2

3 ml huile essent.
+ 0,01 g Na_2CO_3
+ 8 μg Fe(III)

Echant. 2 + étalon interne

0,01 g
 Na_2CO_3

Blanc 2

1 ml huile
essentielle
+ 0,01 g Na_2CO_3

Echantillon 3

1 ml huile essent.
+ 0,01 g Na_2CO_3
+ 8 μg Fe(III)

Echant. 3 + étalon interne

2^o calcination :

5 ml huile
essentielle
+ 0,01 g Na₂CO₃

Echantillon 4

5 ml huile essent.
+ 0,01 g Na₂CO₃
+ 8 μ g Fe(III)

Echant. 4 + étalon interne

0,01 g
Na₂CO₃

Blanc 3

3 ml huile
essentielle
+ 0,01 g Na₂CO₃

Echantillon 5

3 ml huile essent.
+ 0,01 g Na₂CO₃
+ 8 μ g Fe(III)

Echant.5 + étalon interne

0,01 g
Na₂CO₃

Blanc 4

1 ml huile
essentielle
+ 0,01 g Na₂CO₃

Echantillon 6

1 ml huile essent.
+ 0,01 g Na₂CO₃
+ 8 μ g Fe(III)

Echant.6 + étalon interne

3^o calcination :

5 ml huile
essentielle
+ 0,01 g Na₂CO₃

Echantillon 7

5 ml huile essent.
+ 0,01 g Na₂CO₃
+ 8 μ g Fe(III)

Echant.7 + étalon interne

0,01 g
Na₂CO₃

Blanc 5

3 ml huile
.....

Echantillon 8

3 ml huile
.....

Echant.8 + étalon interne

0,01 g
Na₂CO₃

Blanc 6

1 ml huile
.....

Echantillon 9

1 ml huile
.....

Echant.9 + étalon interne

Analyse polarographique

Chaque creuset est repris par 1 ml HCl concentré., puis 10 ml d'oxalate d' NH_4 0,25 M . La solution est amenée au pH = 6 par adjonction de triéthanolamine (de 1 à 1,3 ml environ), puis portée à 20 ml par addition d'eau tridistillée.

Le fer dans chaque solution est dosé par "pulse" polarographie différentielle, dans les conditions suivantes :

- temps de goutte : 1 sec.
- low pass filter : 30 msec.
- balayage de : -0,5 V à -1,5 V
- étalement échelle : 0,1 V/inch
- scan rate : 2 mV/sec
- pulse : 100 mV
- sensibilité : $1 \mu\text{A}$

Tableau des résultats

No échant. (quantité huile)	$i_{d_{x+e}}$ (μA)	i_{d_x} échant. (μA)	$i_{d_e} =$ $i_{d_{x+e}} - i_{d_x}$	No du blanc
1 (5ml)	0,54	0,38	0,16	1
2 (3ml)	0,39	0,22	0,17	
3 (1ml)	0,265	0,08	0,185	2
4 (5ml)	0,50	0,41	0,19	
5 (3ml)	0,40	0,24	0,16	3
6 (1ml)	0,197	0,06	0,137	
7 (5ml)	0,58	0,40	0,18	4
8 (3ml)	0,33	0,20	0,13	
9 (1ml)	0,27	0,09	0,18	5
-	-	-	-	6

Les calculs se font comme expliqué précédemment.

No échantillon (quantité huile en ml)	Quantité de Fe^{+3} dans 20 ml (μg)	Concentration de Fe^{+3} dans huile ($\mu\text{g}/\text{ml}$ huile)
1 (5ml)	18,50	3,70
2 (3 ml)	11,40	3,80
3 (1ml)	3,75	3,75
4 (5ml)	17,30	3,46
5 (3ml)	12,00	4,00
6 (1ml)	3,50	3,50
7 (5ml)	17,70	3,55
8 (3ml)	12,30	4,10
9 (1ml)	4,00	4,00

$$\bar{x} = 3,76 \mu\text{g}/\text{ml d'huile}$$

$$\sigma_x = 2,34 \cdot 10^{-2}$$

$$\sigma_{\bar{x}} = 7,80 \cdot 10^{-2}$$

$$P_{e(x)} = 1,58 \cdot 10^{-1}$$

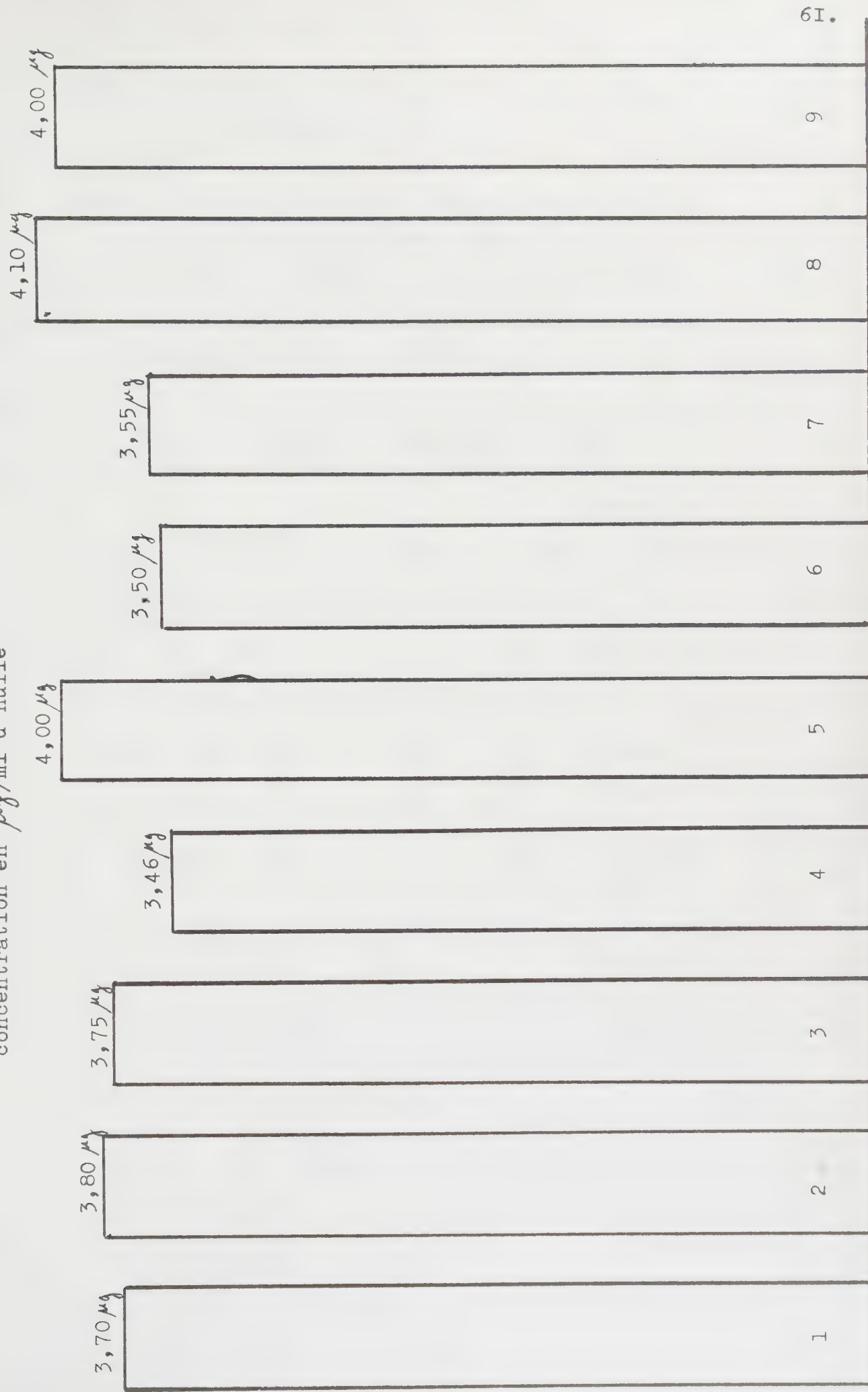
$$P_{e(\bar{x})} = 5,26 \cdot 10^{-2}$$

Le résultat moyen est donc:

$$3,76 \pm 0,08 \mu\text{g}/\text{ml huile}$$

ANALYSE DU FER DANS L'HUILE ESSENTIELLE DE CITRON.

concentration en $\mu\text{g}/\text{ml}$ d'huile



3.3.5.4. Etude du Zn^{+2}

La détermination semi quantitative de zinc sur trois échantillons d'huile a confirmé les résultats obtenus lors de l'analyse par activation. Soit en moyenne : $46 \mu g$ de Zn par ml d'huile.

3.4 Tableau récapitulatif

En résumé, voici quelles sont les traces métalliques décelées et dosées.

élément	concentration dans l'huile ($\mu g / ml$)		
Zn^{+2}	46	$\pm$	2
Mn^{+2}	0,005	$\pm$	0,001
Na^{+}	13,6	$\pm$	0,7
Al^{+3}	0,074	$\pm$	0,007
Cd^{+2}	0,0077	$\pm$	0,0004
Pb^{+2}	0,062	$\pm$	0,007
Fe^{+3}	3,76	$\pm$	0,08

Chapitre 4

Détection de l'acide citrique, antioxydant naturel dans l'huile essentielle de citron

4.1 Introduction et but de cette étude

Au cours de l'extraction de l'huile essentielle de citron (voir chapitre précédent), nous avons remarqué un abaissement sensible du pH de la phase aqueuse d'extraction :

1 ml H ₂ O tridistillée pH = 6,5	avant extraction
pH = 3,7	après extraction de 2 ml d'huile
pH = 3,1	après extraction de 4 ml d'huile

Des acides passent donc dans la phase aqueuse.

Les acides principaux mentionnés dans la littérature, se trouvant dans l'huile essentielle de citron, sont les suivants (réf. 52) :

- acide acétique
- acide caprique
- acide laurique

Notre travail consistant à déterminer les traces métalliques contenues dans l'huile essentielle de citron, et leurs propriétés, il était nécessaire de rechercher dans cette huile si des acides capables de complexer les ions et de jouer le rôle d'antioxydants naturels n'étaient pas présents.

C.V. Ramakrishnan (53) a montré l'existence de faibles quantités d'acide citrique dans la peau des citrons. Nous avons donc recherché l'acide citrique.

4.2 Recherche qualitative

Nous avons fait un spectre d'absorption U.V. de la phase aqueuse d'extraction de l'huile, de 400 nm à 200 nm. Figure no 10 (Spectrophotomètre Beckman DBG).

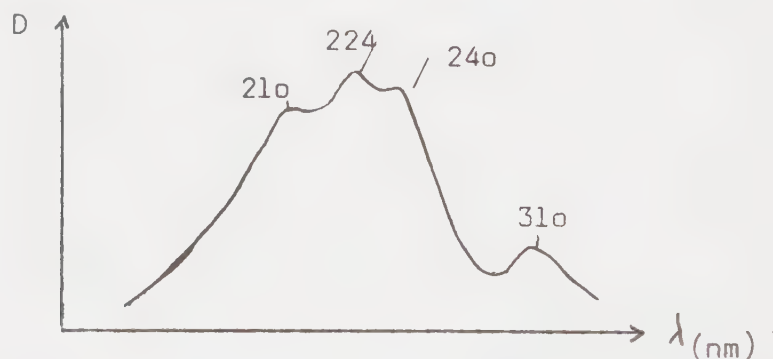


Fig.10 : spectre d'absorption de la phase aqueuse d'extraction

Nous constatons 4 pics d'absorption situés à :

{	310	nm
	240	nm
	224	nm
	210	nm

Si l'on fait un spectre U.V. de l'acide citrique ainsi qu'un spectre U.V. du citrate de sodium en phase aqueuse (de 320 à 200 nm), et que l'on les superpose, on obtient la figure no 12 :

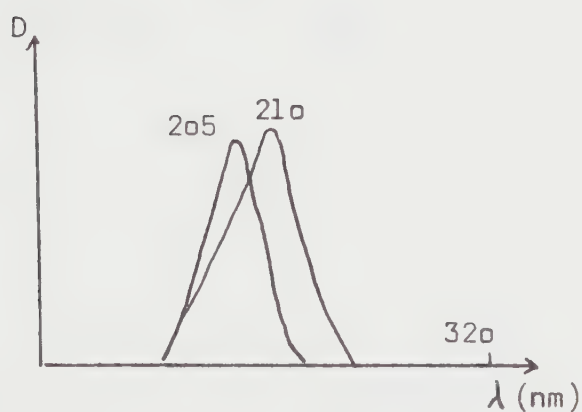


Fig. 12 : Le pic de l'acide citrique est à 210 nm
le pic du citrate de Na est à 206 nm

Le spectre U.V. de l'acide acétique (mentionné par Guenther dans l'huile essentielle de citron) et le spectre U.V. de l'acétate de Na donnent une fois superposés la figure 13.

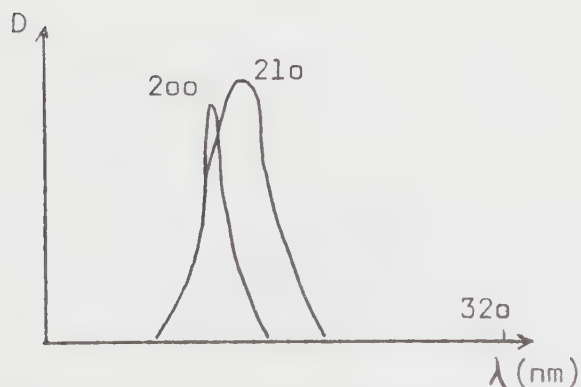


Fig. 13 : Le pic de l'acide acétique est à 210 nm
le pic de l'acétate de Na est à 200 nm

Si l'on se reporte au spectre de la phase aqueuse d'extraction de l'huile essentielle de citron mentionné plus haut, le pic d'absorption de 210 nm peut être attribué soit à l'acide acétique, soit à l'acide citrique, soit à la présence des deux.

Si l'on ajoute une quantité connue d'acide citrique à l'huile essentielle de citron (5.85 $\mu\text{g/ml}$), et que l'on enregistre le spectre U.V. de cette huile de 400 nm à 200 nm, on obtient le spectre de la figure 14 ,

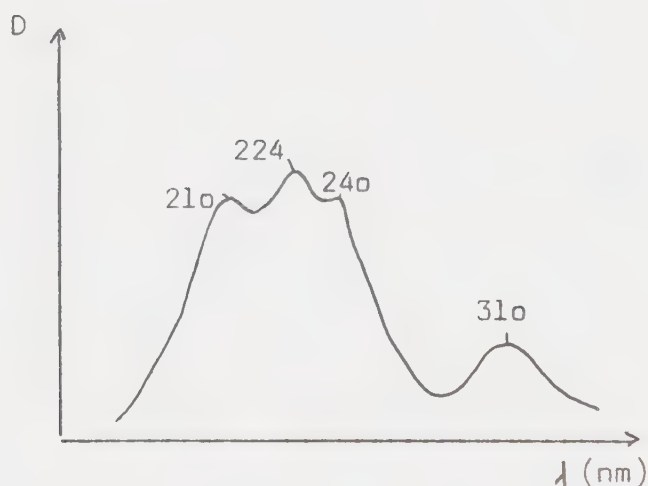


Fig.14

et on constate qu'il n'y a pas apparition de nouveau pic d'absorption et que le pic de 210 nm a augmenté.

Il fallait trouver un moyen pour différencier les pics d'absorption de l'acide citrique et de l'acide acétique.

Ce moyen nous est décrit par N.A. Zhabolovskaya (54) qui propose la formation de pentabromoacétone de l'acide citrique, extraction de celle-ci par le chloroforme, et enregistrement du spectre U.V. de la phase chloroformique. Dans ces conditions, l'acide acétique ne réagit pas.

Si on fait cette réaction sur une solution aqueuse d'acide citrique de référence, on obtient le spectre de la figure no 15.

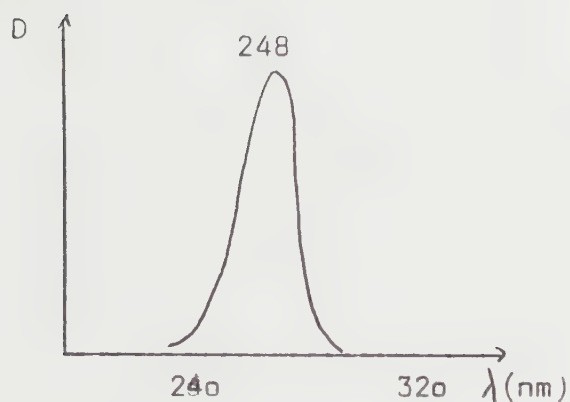


Fig.15 : le pic d'absorption de la pentabromoacétone est à 248 nm (solution dans chloroforme)

Si l'on fait cette réaction sur la phase aqueuse d'extraction de l'huile essentielle de citron, et si on extrait la pentabromoacétone dans CHCl_3 , on obtient le spectre U.V. suivant : figure no 16.

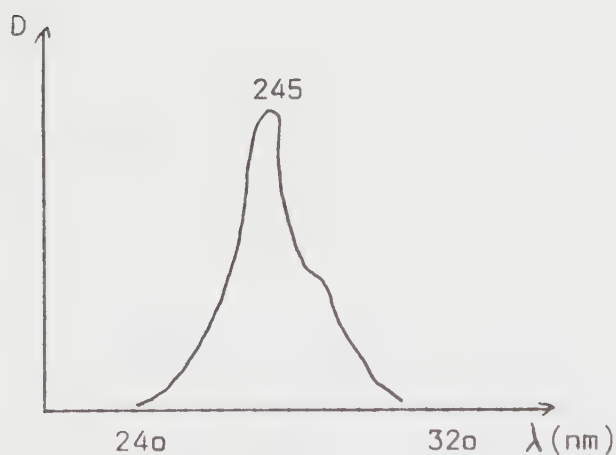


Fig.16 : le pic d'absorption se trouve à 245 nm (solution dans chloroforme)

On pourrait donc penser qu'il s'agit bien du pic de la pentabromoacétone. Il reste néanmoins un doute à éclaircir.

Si l'on prend le spectre U.V. de la phase aqueuse d'extraction mentionné plus haut, on y observe un pic d'absorption à 240 nm. Serait-ce ce pic que l'on retrouve dans la phase chloroformique après réaction de la phase aqueuse d'extraction de l'huile essentielle pour former la pentabromoacétone, puis extraction par CHCl_3 ?

Pour lever le doute, nous avons fait subir la transformation suivante à la phase aqueuse d'extraction de l'huile essentielle : nous avons fait évaporer cette phase aqueuse dans un rotavapor et avons recueilli le distillat. Puis après avoir amené le pH à 9 par adjonction de NH_4OH , nous avons ajouté une solution de BaCl_2 . Il s'est alors produit un précipité de sel de Ba dans la solution. Après centrifugation et filtration, nous avons pris le spectre U.V. (de 400 à 200 nm) de cette phase aqueuse. Nous avons obtenu le spectre de la figure no 17

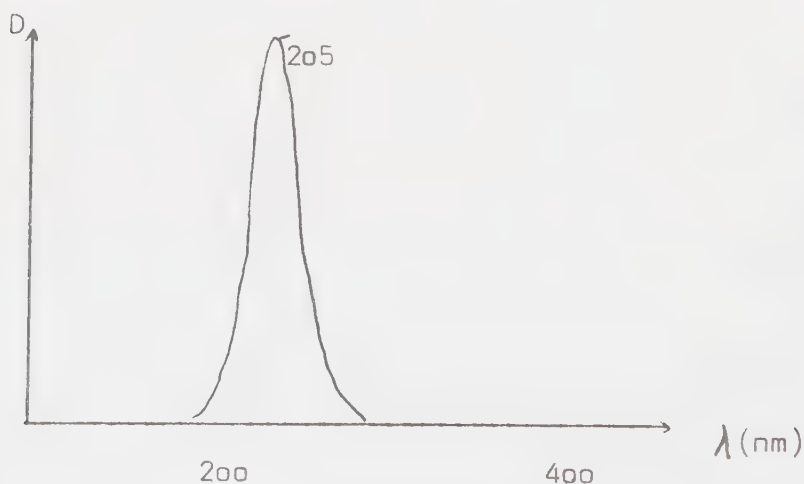


Fig. 17 : le pic d'absorption se trouve à 205 nm

Il peut donc s'agir soit du pic de l'acide acétique sous forme acétate, soit du pic de l'acide citrique sous forme de citrate, soit des deux.

Nous avons alors provoqué la réaction de formation de la pentabromoacétone sur cette phase aqueuse transformée, avons extrait la pentabromoacétone avec CHCl_3 et avons pris le spectre U.V. de la phase CHCl_3 : figure 18.

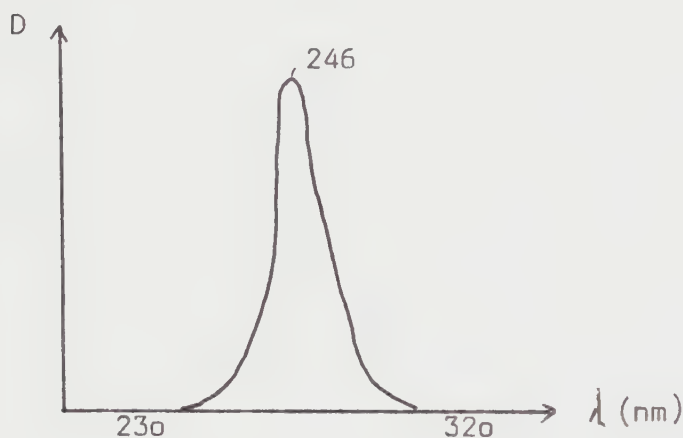


Fig. 18 : pic d'absorption se trouve à 246 nm

Il s'agit donc bien d'acide citrique dont le pic d'absorption U.V. se confond avec celui de l'acide acétique.

4.3 Recherche semi quantitative

Il nous a semblé intéressant de déterminer l'ordre de grandeur de la concentration de cet agent complexant, dans la phase aqueuse d'extraction de l'huile.

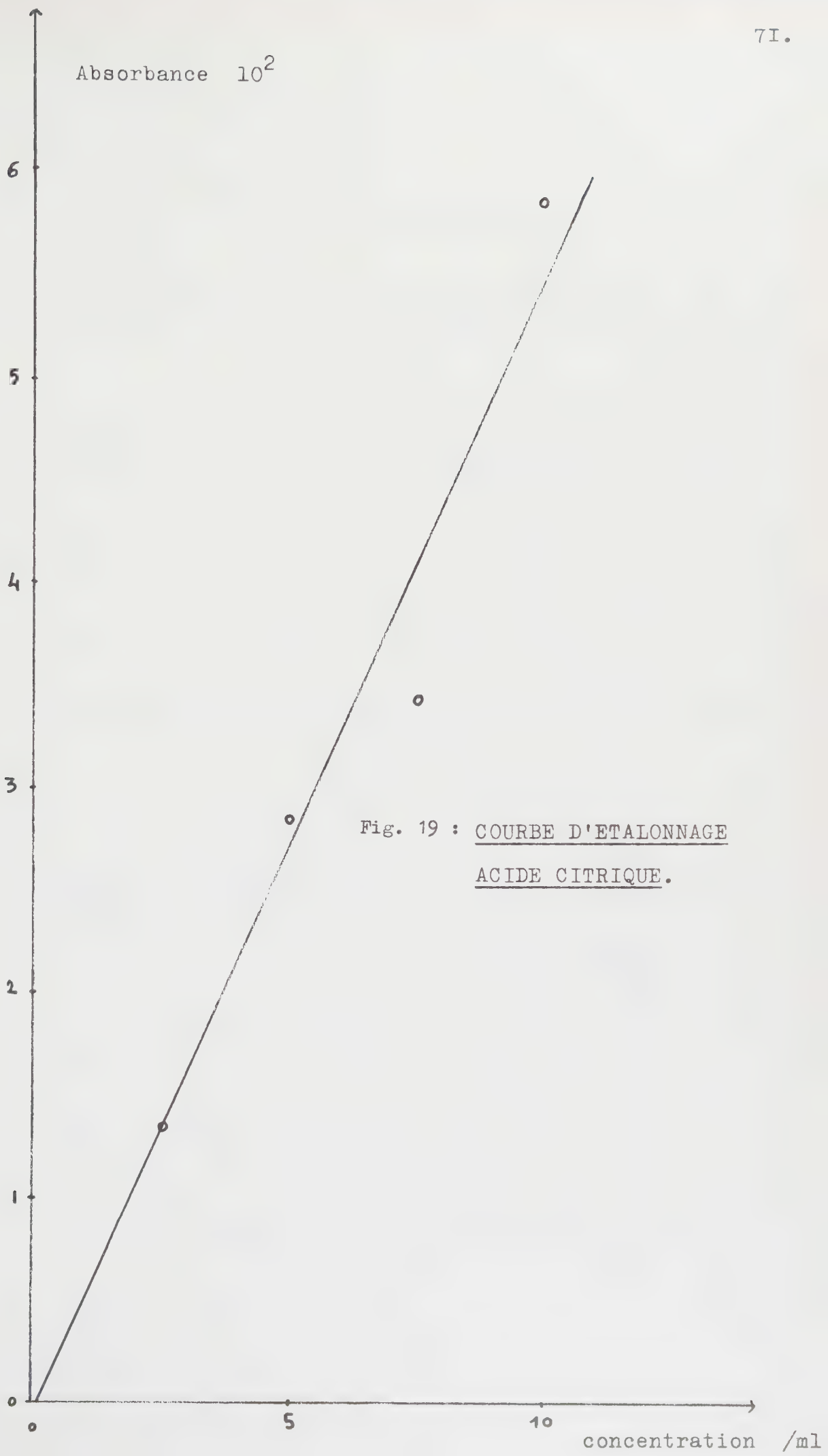
Nous avons utilisé la méthode de formation de la pentabromoacétone décrite par N.A. Zhabolovskaya (54) et Camp et L.Farmer(55). Voici la façon dont on procède :

4.3.1. Procédé

A 1 ml de l'échantillon contenu dans un tube à centrifuger, on ajoute 1 ml d'une solution 10 % de HPO_3 dans H_2SO_4 9 N. On place ensuite le tube dans un bain de glace, on ajoute 2 ml d'une solution à 5 % de NaBr dans une solution à 5 % de KMnO_4 , tout en agitant, on laisse dans le bain de glace pendant 10 minutes. On ajoute ensuite H_2O_2 3% goutte à goutte pour décolorer la solution (KMnO_4 en excès), puis on extrait la pentabromoacétone avec 1,5 ml d'heptane : la pentabromoacétone forme avec la thiourée, en milieu alcalin, un complexe coloré dont le maximum d'absorption se situe à 445 nm. Au 1 ml de la phase heptane, on ajoute 3,5 ml d'une solution de 2 % de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ dans la thiourée à 4 % (pH = 9,2). On agite, sépare la phase aqueuse et mesure son absorption à 445 nm ; le blanc est préparé en extrayant 1 ml d'heptane par 3,5 ml de la solution de thiourée.

4.3.2. Courbe d'étalonnage

Nous avons donc fait 3 courbes d'étalonnage, en préparant des solutions aqueuses d'acide citrique, et en les traitant comme indiqué ci-dessus. (cf. figure no 19 et tableaux de la page suivante).



Préparation des solutions étalons :

	étalonnage No				concentration $\mu\text{g} / \text{ml}$
	1	2	3		
solutions	A	A'	A''	solution de base	500
solutions	B	B'	B''		10
solutions	C	C'	C''		5
solutions	D	D'	D''		2,5
solutions	E	E'	E''		7,5

Tableau des résultats obtenus :

lecture à 445 nm	Absorbtion			Absorbtion moyenne
	étalonnage 1	étalon. 2	étalon. 3	
concentration en $\mu\text{g} / \text{ml}$				
10	0,0560	0,0600	0,0600	0,0586
7,5	0,0360	0,0320	0,0350	0,0343
5	0,0270	0,0260	0,0320	0,0284
2,5	0,0120	0,0120	0,0160	0,0133

4.3.3. Mesures

Nous avons extrait des échantillons de 4 ml d'huile par 2 ml d'eau et avons traité l'eau d'extraction comme indiqué précédemment.

no de l'échantillon	densité optique	concentration de l'acide citrique en mg/ml d'huile
1	0,026	2,4
2	0,030	2,7
3	0,025	2,3

$$\bar{x} = 2,5 \text{ mg/litre}$$

Remarque : la concentration d'acide citrique diminue au cours du vieillissement de l'huile.

Chapitre 5

Contribution à l'étude de l'oxydation du citral, composant de l'huile essentielle de citron

5.1 Introduction

L'oxydation est catalysée par les traces métalliques, c'est pourquoi nous avons recherché systématiquement, dans le troisième chapitre les traces métalliques contenues dans l'huile de citron. Nous nous sommes vite rendus compte qu'il était impossible de faire une étude sérieuse sur l'ensemble de l'huile, étant donné la grande complexité du mélange. Voici en effet les principaux constituants de l'huile essentielle de citron :

	Hydroc. non terpéniques :	Octylène
<u>Hydrocarbures</u>		{ α -Pinène
		Camphène
	Hydroc. terpéniques :	{ β -Pinène
		β -Phellandrène
		γ -Terpinène
		δ -limonène
<u>Alcools</u>	tous terpéniques	{ Géraniol
		Nérol
		Citronellol
		α -Terpinéol

<u>Aldéhydes</u>	Aldéhydes non terpéniques	{ Aldéhyde octylique Aldéhyde nonylique Aldéhyde décylrique Aldéhyde duodécylrique
	Aldéhyde terpénique	{ Citronellal Citral α et β
<u>Cétones</u>	1 cétone non terpénique	Me - hepténone
<u>Esters</u>	2 esters terpéniques	{ Acétate de linalyl Acétate de géranyl

Le d-limonène forme le 90 % de l'huile, et son oxydation a déjà été étudiée par M. Garnier et Robert Pallaud (56). Le citral constitue 6 % de l'huile, les autres composants indiqués moins de 1 %. D'autre part, à notre connaissance, l'oxydation du citral n'a pas été étudiée à ce jour, ce qui explique que nous ayons choisi d'apporter une contribution à l'étude de l'oxydation du citral.

Le citral est donc un aldéhyde terpénique de formule brute $C_{10}H_{16}O$. Il est constitué d'un mélange de deux isomères, cis (gérônical ou α -citral) et trans (néral ou β -citral).

Le produit fourni par la Maison Givaudan S.A., a la composition suivante : 33,86 % de trans, 65 % de cis et 1,14 % de Me-hepténone.

Détermination de la composition : chromatographie en phase gazeuse sur colonne de chromasorb WAW DMCS et 10 % de Reoplex 400 comme phase liquide.

L'analyse des traces de fer a révélé une teneur de $3,00 \pm 0,08 \mu\text{g}$ de Fe/ml de citral.

Avant utilisation, le citral est distillé sous vide et conservé dans des flacons en verre brun à 4°C .

Les facteurs susceptibles d'influencer l'oxydation sont :

- la quantité d'oxygène dissoute ; donc la pression partielle de l'oxygène au dessus du citral
- concentration du citral
- traces métalliques
- température
- lumière actinique ou naturelle

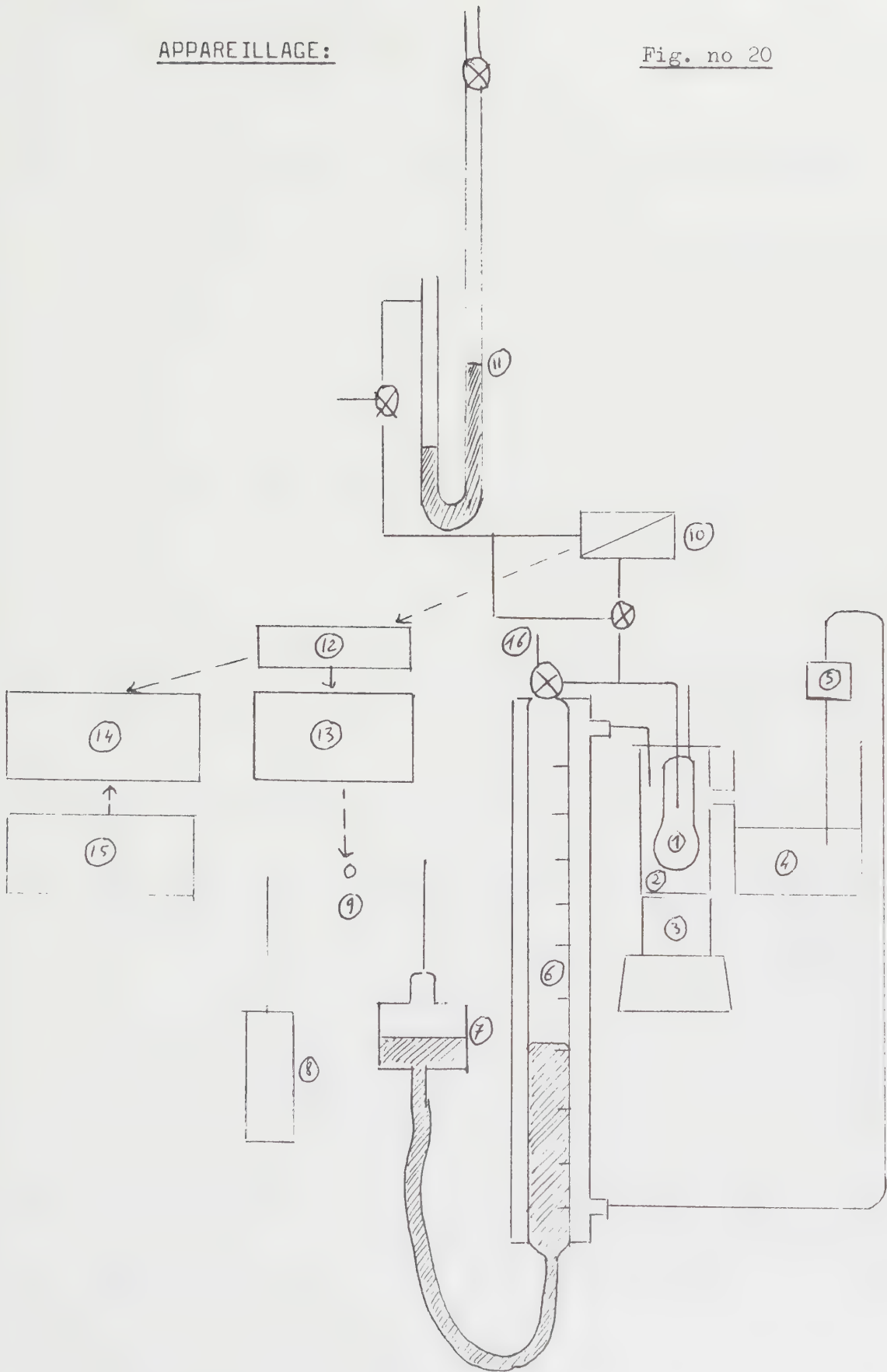
5.2. Appareillage

Il nous fallait donc envisager la construction d'un appareil permettant :

- 1) de suivre la réaction par mesure de la quantité d' O_2 absorbée en fonction du temps
- 2) de maintenir 4 des facteurs ci-dessus constants en faisant varier le cinquième.

De plus, nous voulions un enregistrement automatique des données, et pour les expériences effectuées à pression constante, un système automatique de maintien de la pression à une valeur déterminée.

M. Cerez, ingénieur-électronicien, a conçu et construit les parties électroniques et mécaniques de l'appareil (cf. figure no 20)

APPAREILLAGE:Fig. no 20

Appareillage : (cf. figure 20)

- (1) ballon fond rond de 50 ml
- (2) thermostatisation du réacteur
- (3) agitateur magnétique
- (4) Bain de thermostatisation
- (5) pompe
- (6) burette à gaz de 100 ml thermostatisée
- (7) réservoir de Hg
- (8) contrepoids
- (9) roue dentelée
- (10) préssio-stat différentiel
- (11) manomètre de référence
- (12) générateur d'impulsions
- (13) moteur pas à pas
- (14) enregistrement des données en digital
- (15) horloge
- (16) remplissage en O_2 de la burette

Il se compose :

- d'un réacteur (ballon rodé fond rond de 50 ml, thermostatisé et à l'abri de la lumière).
- relié à une burette à gaz (thermostatisée elle aussi) de 100 ml .

La burette est reliée par un tuyau souple à un réservoir de Hg. Un pressiostat différentiel , dont une des chambres est branchée entre le réacteur et la burette, commande électroniquement la mise en marche du moteur pas à pas qui monte ou descend le réservoir de mercure. Ceci permet de maintenir une pression constante dans le réacteur, pression imposée au départ dans l'autre chambre du pressiostat au moyen d'un manomètre à mercure. D'autre part, lors de chaque réajustement de pression effectuée par le moteur, le nombre d'impulsions nécessaires à la correction , est enregistrée sous forme numérique, ainsi que l'heure à laquelle s'est effectuée la correction. Le nombre d'impulsions est proportionnel à la distance parcourue par le réservoir de Hg, et par conséquent au volume d'oxygène consommé.

Voici la synoptique des circuits électroniques (figure no 21)

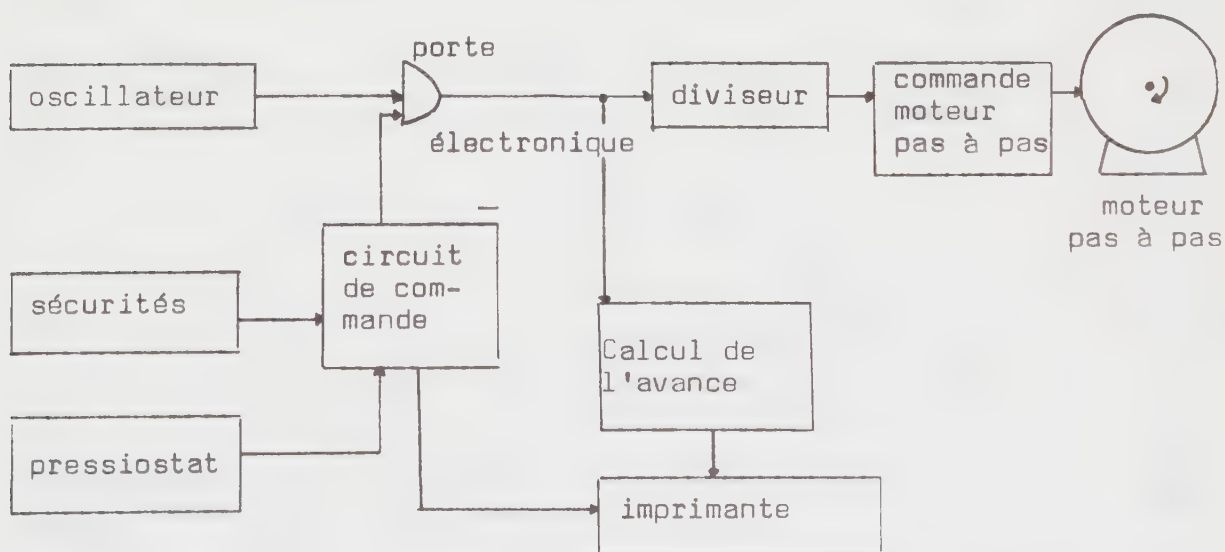


Figure no 21

5.3. Conditions expérimentales

5.3.1. Cinétiques d'oxydation du citral en absence de lumière, sans adjonction de catalyseur

Nous avons fixé la température de la réaction à 20 °C et avons effectué quatre cinétiques à des pressions de :

- 1) P = 817,4 mm Hg
- 2) P = 755,4 mm Hg
- 3) P = 730,2 mm Hg
- 4) P = 720,2 mm Hg

oxydant chaque fois 0,5 ml de citral.

Les résultats obtenus sont présentés sur la figure no 22 .

On remarque qu'entre certaines limites de temps, après la période d'induction d'une quinzaine d'heure environ, la réaction d'absorption d'oxygène varie linéairement avec le temps. Jusqu'à 35 heures environ les vitesses sont les mêmes. Nous avons effectué des régressions linéaires sur les parties droites et les avons représentées sur la figure no 23.

On pourrait donc représenter à ce moment l'équation de la vitesse de réaction de la façon suivante :

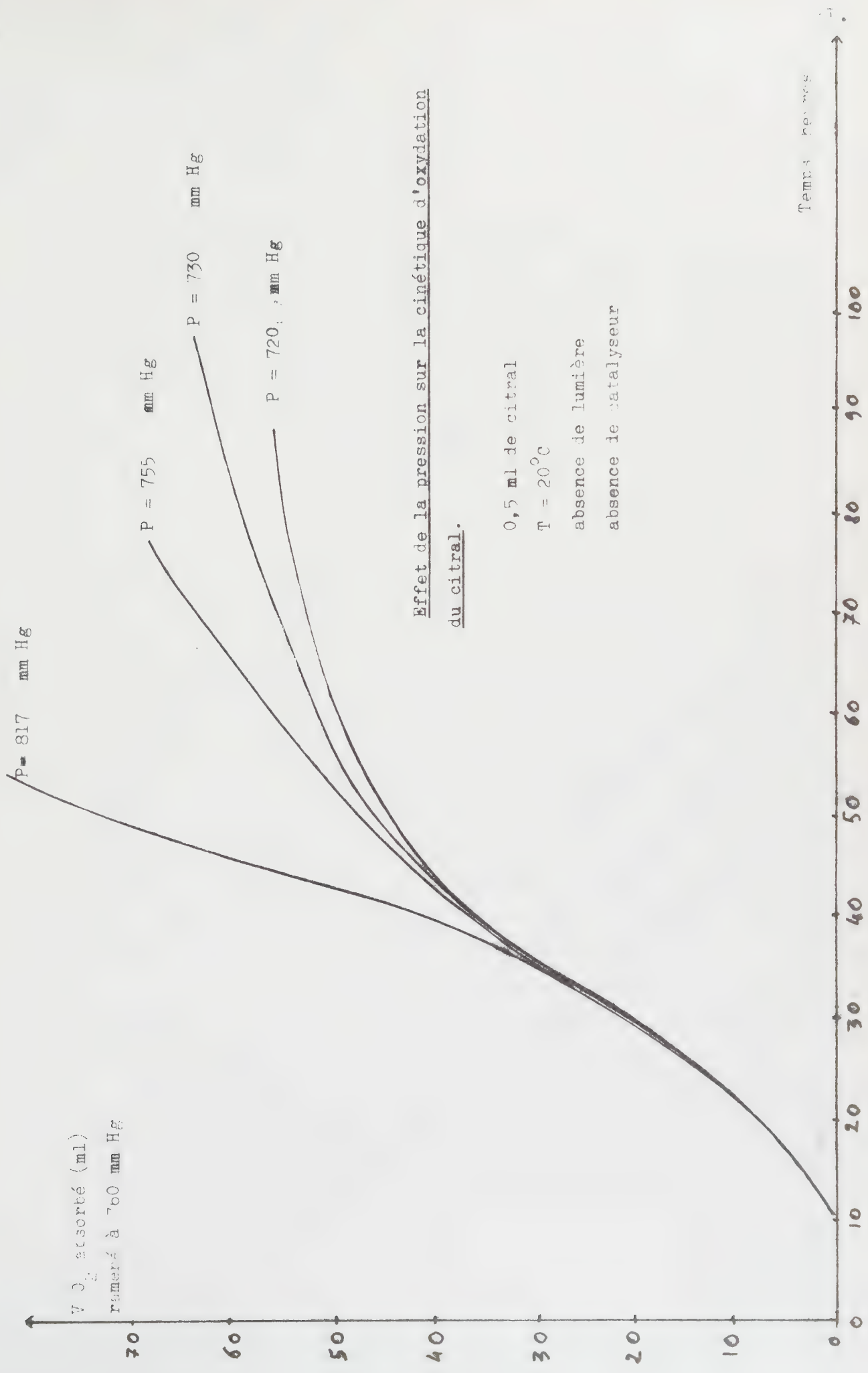
$$-\frac{d[O_2]}{dt} = k \left[[citral]_0 - x \right] \left[[O_2]_0 - y \right]$$

$[citral]_0$ = concentration du citral au temps $t = 0$

$[O_2]_0$ = concentration de l'oxygène dans le citral au temps $t=0$

x = concentration de citral transformé au temps t

y = concentration d'oxygène ayant réagi au temps t



Effet de la pression sur la cinétique d'oxydation du citral.

0,5 ml de citral

$T = 20^{\circ}C$

absence de lumière

absence de catalyseur

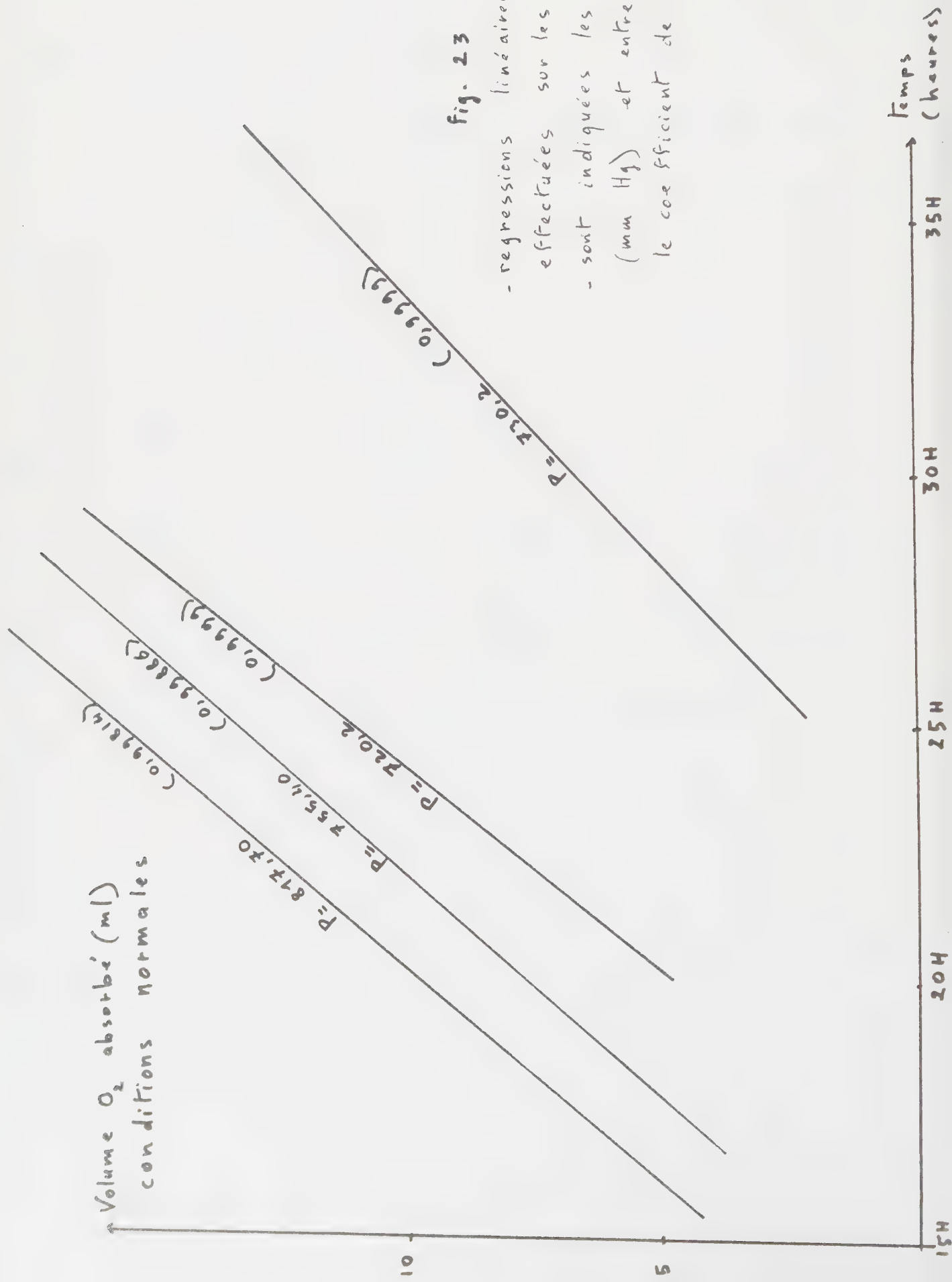


Fig. 23

- regressions linéaires

- effectuées sur les cinétiques

- sont indiquées les Pressions

(mm Hg) et entre parenthèses

le coefficient de corrélation

En début de réaction, dans la partie droite de la courbe , cinétique (ordre zéro ou 1 dégénéré), x est très petit devant $[\text{citral}]_0$, or la cinétique s'effectue sur du citral pur, donc la concentration du citral n'intervient pas. D'autre part, y est également très petit devant $[O_2]_0$. Ce qui expliquerait la constante de vitesse :

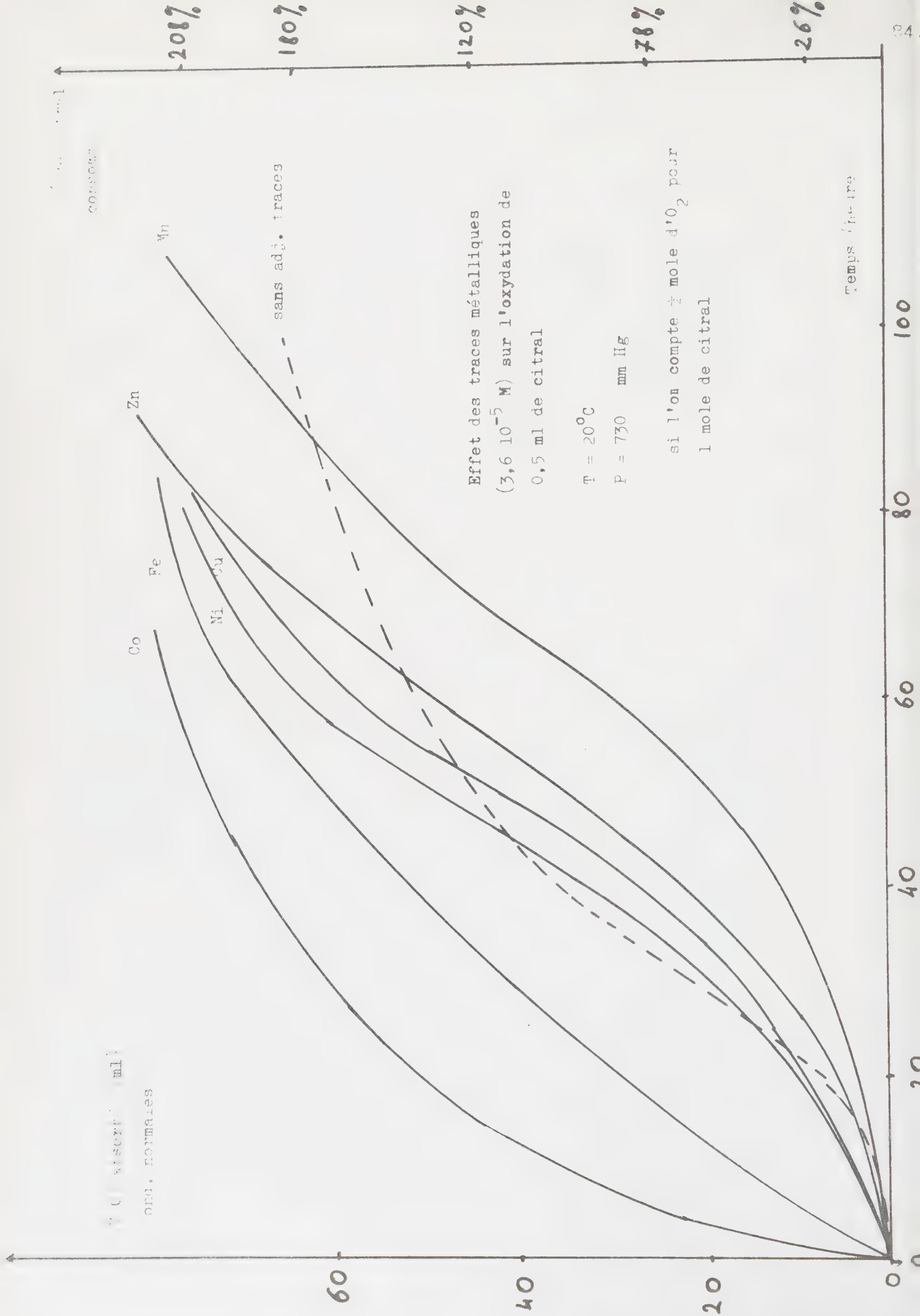
$$-\frac{d[O_2]}{dt} = k [O_2]_0 = K$$

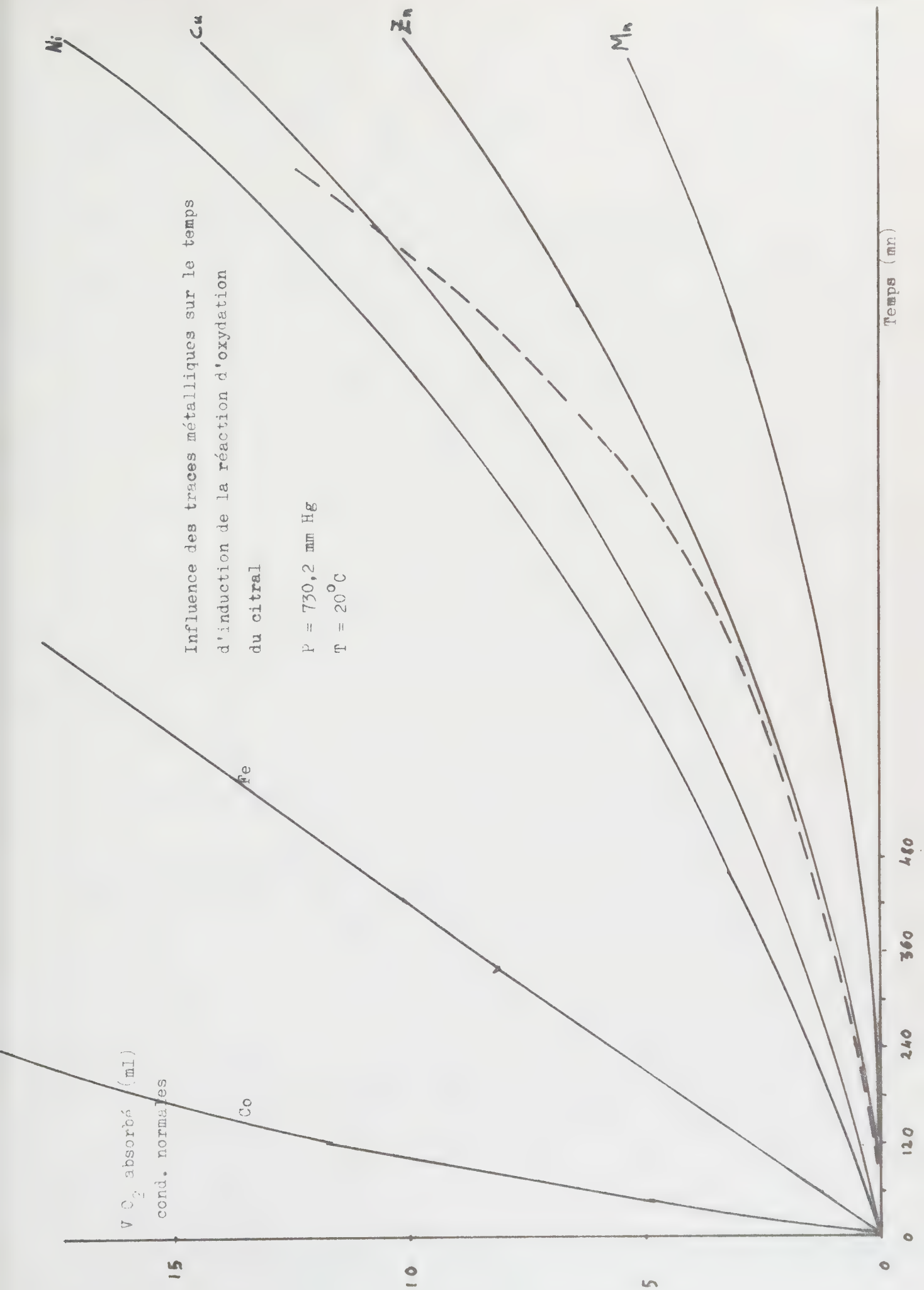
5.3.2. Influence des catalyseurs sur la cinétique d'oxydation

Nous avons testé les effets catalytiques des traces métalliques sur la vitesse d'oxydation du citral. Des traces de Mn(II) Fe(II) , Co(II), Ni(II) , Cu(II) , Zn(II) ont été introduites dans 0,5 ml de citral sous forme d'acétates à une concentration de $3,6 \cdot 10^{-5} M$. Les oxydations se sont faites en absence de lumière à 20°C et à une pression de 730,2 mm Hg. Les résultats obtenus sont représentés sur la figure no 24 . La courbe tracée en point tiré représente la cinétique d'oxydation de 0,5 ml de citral dans les mêmes conditions de T et P (20°C et 730,2 mm de Hg) sans adjonction de catalyseur. On constate :

1) que le fer et le cobalt sont d'excellents catalyseurs d'oxydation du citral, ils éliminent la période d'induction et accélèrent la vitesse de réaction.

2) que le nickel et le cuivre raccourcissent le temps d'induction. Si l'on fait l'hypothèse qu'il ne se forme que l'acide gérannique, acide directement dérivé du citral, on voit que la réaction se poursuit au-delà de la transformation de tout le citral en acide gérannique.





3) la présence de $Mn(II)$ augmente considérablement la période d'induction sans effet marqué sur la vitesse.

4) le zinc augmente très légèrement la période d'induction et augmente le rendement de l'oxydation.

5) la classification par force décroissante des catalyseurs favorisant la réaction d'oxydation du citral est donc :



La figure no 25 est la même que la figure précédente, mais l'échelle est plus grande et permet de représenter l'influence des traces métalliques sur les temps d'induction de la réaction d'oxydation du citral à $T = 20^{\circ}C$, et $P = 730,2$ mm Hg

-Influence de la concentration des traces métalliques sur l'oxydation du citral.

Nous avons testé l'effet de la concentration du $Co(II)$ ajouté sous forme d'acétate, sur l'oxydation du citral, avec trois concentrations différentes :

$$3,6 \cdot 10^{-5} \text{ M}$$

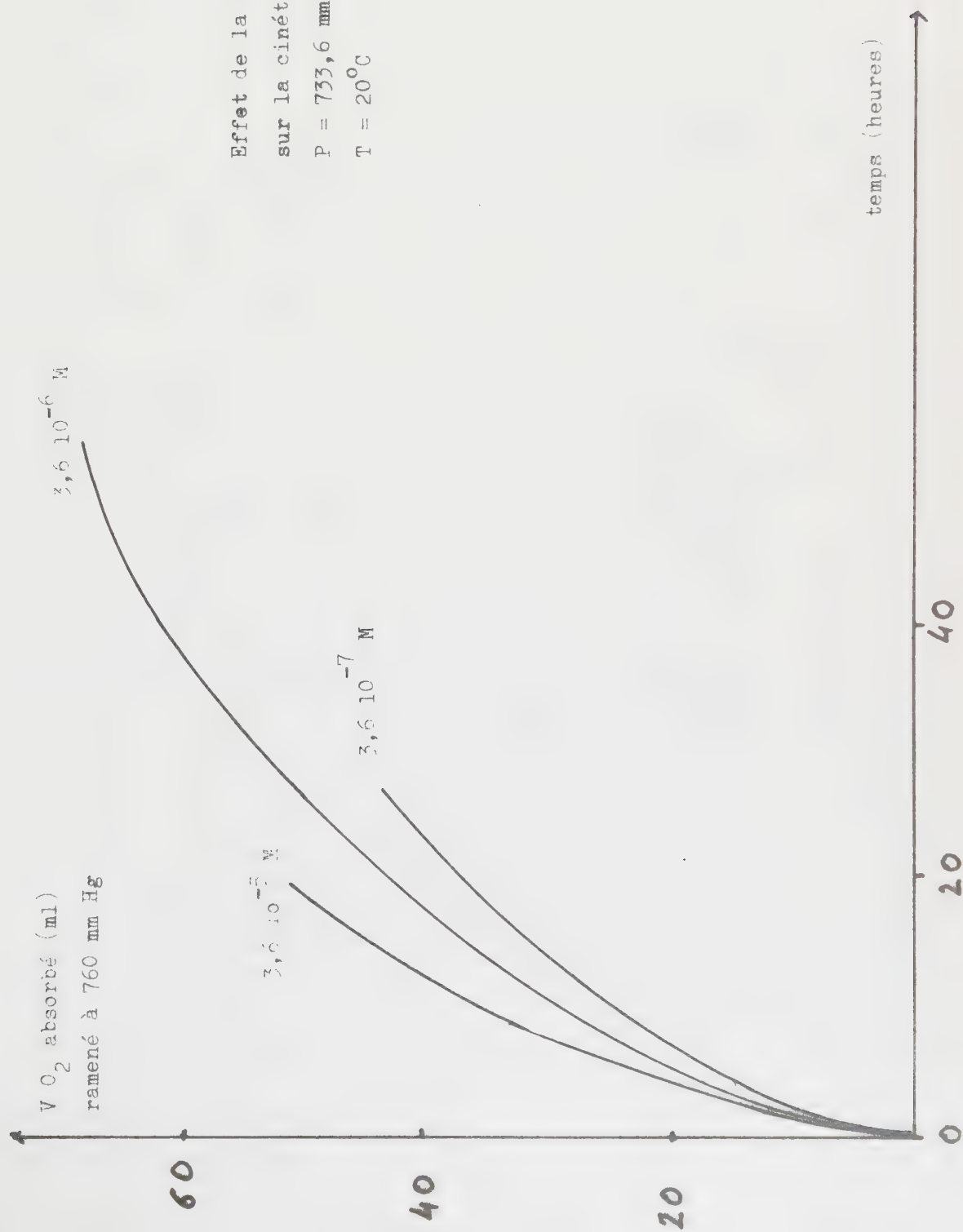
$$3,6 \cdot 10^{-6} \text{ M}$$

$$3,6 \cdot 10^{-7} \text{ M}$$

à $P = 733,6$ mm Hg

$T = 20^{\circ}C$

Les résultats sont représentés figure no 25 .



un constate que la concentration du Co(II) joue un rôle sur la vitesse d'oxydation du citral. On pourrait envisager un dosage du Co(II) dans le citral par cette méthode cinétique à condition semble-t-il de descendre vers des concentrations de Co(II) encore plus basses que celles utilisées pour ce test. Mais cette étude constituerait une thèse à elle seule.

Résumé et conclusion

Nous avons analysé les traces métalliques contenues dans l'huile essentielle de citron. Nous y avons trouvé des traces de: Zn , Mn, Na, Al, Cd, Pb, Fe. Au moyen de l'analyse par activation, sans destruction de l'huile. Au moyen de la polarographie après destruction de l'huile.

Nous avons donc mis au point une méthode de minéralisation qui convenait particulièrement bien dans notre cas. Nous avons, avec l'aide de l'Ingénieur-électronicien de notre Département, M. Cerez, également mis au point un appareil permettant de suivre la cinétique d'oxydation du citral, composant de l'huile essentielle de citron. Nous mesurons la quantité d'oxygène absorbée en fonction du temps, en maintenant constantes la température et la pression.

Nous avons effectué plusieurs cinétiques à des pressions différentes, puis avons étudié l'influence des traces métalliques sur l'allure générale de la cinétique.

Bibliographie

1. J. Rouget, La France et ses Parfums, 5(27) 1962 , 114.
2. N. Uri, Autoxidation and antioxidants, Vol.I, p.69
Lundberg Editor - Interscience Publishers.
3. Livingstone, Loc. Cit. , p. 249
4. Bowen,E.J. , Discussions Faraday Soc., 14, 143 (1953)
5. Livingstone,R. et V. Subba Rao, J. Am. Chem. Soc. 63, 794(1959)
6. Bowen,E.J. et K. Rohatgi, Disc.Faraday Soc., 14 , 146 (1953)
7. Schenk,G., Z.Elektrochem. 56, 855 (1952)
8. Livingstone (voir référence (2) , p. 286)
9. Livingstone , loc.cit. , p.293
10. Vioque, M.del Pillar Villagran, Grasas y aceites (Seville-Spain) 8, 152-4 (1957)
11. Vioque, M.des Pillar Villagran, ibid. 7 , 239-42 (1956)
12. N. Uri, Autoxidation and antioxidants, Vol.I, p.94
Lundberg Ed. - Interscience Publ.
13. Lundberg,W.O. , Oléagineux, 4 , 85 (1949)
14. Bawn, C.E.H., Discussion Faraday Soc., 14, 240 (1953)
15. W.S. Lyon, Jr. ,ed., Guide to Activation Analysis, Van Nostrand, Princeton, New Jersey (1964)
16. D. Taylor, Neutron Irradiation and Activation Analysis,
Van Nostrand, Princeton, New Jersey (1964)
17. P. Albert, L'analyse par Radioactivation, Gauthier-Villars et Cie, Paris (1964)

18. B.V. L'Vov, *Spectrochimica Acta*, 24 B (1969) 53
19. H. Massmann, *Rev. GAMS*, 4 (1968) 193
20. Elsa Norval et L.R.P. Butler, *Anal.Chim.Acta*, 58 (1972)
The Determination of lead in blood by atomic Absorbtion
with the high temperature graphite tube.
21. Massmann, H. , *Spectrochim. Acta* 23 B, 215 (1968)
22. Peterson, G.E., Schallis, J.E., *Atomic Absorbtion Newsletter*
7 , 35 (1968)
23. West, T.S. et Williams, X.K., *Atomic absorbtion and fluores-
cence spectroscopy with a carbon filament atom reservoir*,
Anal. Chim. Acta 45, 27 (1969)
24. J.A. Dean, *Flame Photometry*, Mc Graw-Hill, New-York (1960)
25. N.S. Poluéktov, *Techniques in Flame Photometric Analysis*,
traduit par C.N. Burton et T.I. Burton, Consultants Bureau,
New York (1961)
26. R. Hermann et C.T.J. Alkemade, *Chemical Analysis by Flame
Photometry*, 2nd ed. (*Chem. Anal.* ,vol.14), traduit par
P.T. Gilbert, Jr., Interscience, New-York (1963)
27. W.T. Elwell et J.A.F. Giddey, *Atomic Absorbtion Spectrophoto-
metry*, Macmillan, New-York (1962)
28. A.C. Menzies, *Anal. Chem.*, 32, 898 (1960)
29. H. Anghey, *J. Opt. Soc. Am.* 39, 292 (1949)
30. J.L. Churchill et A.H.C.P. Gillieson, *Spectrochim. Acta* 5 ,
238 (1952)

31. E.B. Sandell, Colorimetric Determination of Traces of Metals, 3rd ed., (Chemical Analysis, Vol.3) Interscience, N.Y. (1959)
32. R.P. Bauman, Absorbtion Spectroscopy, Wyley, New-York (1962)
33. J.A. Radley et J. Grant, Fluorescence Analysis in Ultraviolet Light, 5th ed., Van Nostrand, Princeton, New Jersey (1954)
34. Bowen E.J., Luminescence in chemistry, Van Nostrand, Princeton, New Jersey (1968)
35. D. Ilkovic, Collection Czech.Chem.Comm., 6, 498 (1934)
36. L. Meites, Polarographic techniques, 2nd ed. (1965)
Interscience Publishers, Jonh Wiley and Sons, New York
37. O. M. Muller, The polarographic method of analysis, 2nd ed. (1956) - Chemical Education Publishing Co.
38. J. Heyrowsky et P. Zuman, Practical Polarography (1968)
Academic Press, London and N.Y.
39. P. Zuman, I.M. Kolthoff, Progress in Polarography, Vol. I et Vol. II (1962) - Interscience Publ.-J.Wiley & Sons, New-York
40. G.A. Rechnitz, J. Chem. Educ., 41, 385 (1964)
41. Proceedings of a Symposium held at the National Bureau of Standards, Gaithersburg, Maryland- January 30-31 (1969)
Ion Selective Electrodes, Richard A.Durst, Editor
Department of Commerce, National Bureau of Standards, Washington,
Special Publication 314.

42. M.G. Ingham, J.H. Yoe and H.J. Koch, Trace Analysis, Wiley, New-York, 1957, p.437-458
- 43.
44. G.H. Morrison, Trace Analysis, Physical Methods, Interscience Publishers, John Wiley and sons, New-York
45. Analyst, 85 (1960) 643 - Paper prepared by Analytical methods Committee
46. R.A. Anderze, Anal. Chem. 29, 90 (1957)
47. W.B.Dye, E. Bretthauer, H.J. Seim and C.Blincoe, Anal.Chem. 35 (1963) 1687
48. W.H. Allaway and E.E. Cary, Anal.Chem. 36, 1359 (1964)
49. Eric Junod - Rapport C.E.A. R.2.980 - Centre d'études Nucléaire de Saclay - 1966
50. Addendum no 1 (1964) to British Standard 2073 (1962) - Methods of testing essential oils. British Standards Institution
51. Handbook of Analytical Chemistry, Mc Graw-Hill, New-York Louis Meites (1963)
52. Guenther - The Essential oils . Vol. III
53. C.V. Ramakrishnan - Citric metabolism in the fruit tissues of Citrus Acida, Current Sc. 40 (1971)
54. N.A. Zhabolovskaya (Khlebopek.Konditerskaya Prom. 11(12) 1967-1968)
55. Camp et L. Farmer, Clin. Chem., 1967, 13(6) 501-505
56. M. Garnier et R. Pallaud, C.R. Acad. Sciences-Paris, 261, (18 octobre 1965) p.3154

